



**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y  
BIOLÓGICAS**

**CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA MARINA**

**“ASENTAMIENTO Y CRECIMIENTO DE CARPOSPORAS DE  
CHONDRACANTHUS CHAMISSOI SOBRE TRES TIPOS DE  
SUSTRATO EN CONDICIONES SEMI-CONTROLADAS DE  
LABORATORIO”**

Tesis para optar el título profesional de:

**BIÓLOGA MARINA**

Presentado por:

Stephany Pamela Torres Galarza (0000-0002-1602-1645)

Asesor:

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

Lima – Perú

2022

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 09 de abril 2021.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Dr. Natalia Cristina Arakaki Makishi
Miembro: Mg. Alfredo Ruben Palomino Ramos
Miembro: Blga. Selma Heini Santome Sanchez

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

“Asentamiento y crecimiento de carposporas de *Chondracanthus chamissoi* sobre tres tipos de sustrato en condiciones semi-controladas de laboratorio”

Presentada por la/el estudiante/bachiller:

- **Stephany Pamela Torres-Galarza**

Para optar el Título Profesional de Bióloga

Marina Asesorado por: Blgo. Paul Martín

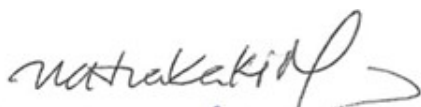
Baltazar Guerrero

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

Tesis: Stephany Pamela Torres-Galarza		Nota (en letras): 15 ( Quince )	
Aprobado (X)	Aprobado - Muy buena ( )	Aprobado - Sobresaliente ( )	Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.

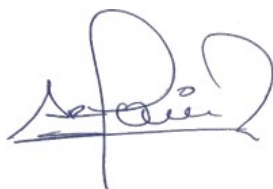
**Dr. Natalia Cristina Arakaki Makishi**



**Presidente**



**Blgo. Selma Heini Santome Sanchez**  
**Miembro 2**



**Mg. Alfredo Ruben Palomino Ramos**  
**Miembro 1**



**Blgo. Paul Martín Baltazar Guerrero**  
**Asesor**

T // (511) 610 6738  
informes@cientifica.edu.pe  
cientifica.edu.pe

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo, fruto de mi esfuerzo y constancia está dedicado con mucho amor para:

Mi mama y hermana, por siempre apoyarme y estar en los momentos más difíciles de mi carrera universitaria, por todo el apoyo moral y emocional que necesite para no rendirme durante este tiempo y por confiar en mí. Especialmente a mi madre, quien siempre me inculca el espíritu de responsabilidad y superación en cada momento de mi vida.

A mi papa, por el apoyo económico.

A mi familia, por ser el impulso que necesito para salir adelante, lograr mis metas y ser mejor persona cada día.

A mis amigos y compañeros que aún siguen en la carrera por cumplir esta parte de sus sueños.

## **AGRADECIMIENTOS**

Este estudio fue financiado por la entidad estatal INNOVATE-Perú gracias al Acuerdo No. 234- INNOVATE PERÚ-IAPIP-2017 en el marco del proyecto: “Desarrollo de un programa de producción de semilla y cultivo de *Chondracantus chamissoi* "yuyo" en la Bahía de Paracas, Pisco”. Asimismo, agradezco a la Cooperativa de Pescadores Artesanales Algas Marinas (COTRAPALMAR) por aportar la materia prima a este proyecto.

A Samuel Arbaiza Quispe, Max Castañeda Franco, Paul Baltazar Guerrero, por su guía y conocimientos durante mi proceso experimental. A mis compañeros quienes participaron dentro del proyecto y con quienes tuve la fortuna de compartir la puesta en marcha de nuestros trabajos de investigación, reforzando nuestros lazos de amistad.

## Indice

<b>Caratula.....</b>	<b>1</b>
<b>Acta de sustentacion.....</b>	<b>2</b>
<b>Dedicatoria.....</b>	<b>3</b>
<b>Agradecimiento.....</b>	<b>3</b>
<b>Indice.....</b>	<b>5-6</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>7</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>7</b>
<b>Contenido de tesis (version ingles).....</b>	<b>8</b>
<b>Introduccion.....</b>	<b>8-9</b>
<b>Methodology.....</b>	<b>9</b>
<b>Design, preparation, and treatment of artificial substrates.....</b>	<b>9</b>
<b>Collection and treatment of <i>C. chamissoi</i>.....</b>	<b>10</b>
<b>Induction to sporulation.....</b>	<b>10</b>
<b>Settlement on ropes.....</b>	<b>11</b>
<b>Growth assessment.....</b>	<b>11</b>
<b>Statistic analysis.....</b>	<b>11</b>
<b>Results.....</b>	<b>11</b>
<b>Settlement on ropes.....</b>	<b>11-12</b>
<b>Basal disc growth.....</b>	<b>13</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>13</b>
<b>Settlement on ropes.....</b>	<b>14</b>
<b>Growth of the fixation disc.....</b>	<b>15</b>
<b>Acknowledgements.....</b>	<b>16</b>
<b>Bibliography.....</b>	<b>16-20</b>
<b>Contenido de tesis (version español).....</b>	<b>21</b>
<b>Introduccion.....</b>	<b>21</b>

<b>Materiales y Metodos.....</b>	<b>22</b>
<b>Diseño, preparación y tratamiento de sustratos artificiales.....</b>	<b>22</b>
<b>Colecta y tratamiento de <i>C. chamissoi</i>.....</b>	<b>23</b>
<b>Inducción a la esporulación.....</b>	<b>23</b>
<b>Asentamiento sobre cuerdas.....</b>	<b>24</b>
<b>Evaluación del crecimiento.....</b>	<b>24</b>
<b>Análisis estadístico.....</b>	<b>24</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>25</b>
<b>Asentamiento en cuerdas.....</b>	<b>25</b>
<b>Crecimiento del disco de fijación.....</b>	<b>26</b>
<b>Discusion.....</b>	<b>26</b>
<b>Asentamiento en cuerdas.....</b>	<b>27</b>
<b>Crecimiento del disco de fijación.....</b>	<b>28</b>
<b>Agradecimientos.....</b>	<b>29</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>29-32</b>

## Resumen

*Chondracanthus chamissoi* es una macroalga roja extraída a lo largo de la costa peruana, debido a su importancia comercial para consumo humanos directo. Sin embargo, a pesar de su importancia, en el Perú son escasas las investigaciones orientadas al desarrollo de su cultivo. Por lo tanto, el presente estudio evaluó el asentamiento y crecimiento de carposporas de *C. chamissoi* en tres tipos de sustrato artificial (nylon, rafia y polipropileno) en condiciones semi-controladas de laboratorio. Se utilizaron individuos fértiles cistocárpicos de playa Mendieta (14°3'S; 76°15'O), los cuales fueron inducidos a esporular mediante estrés osmótico y posteriormente puestos sobre los sistemas experimentales (envases con agua de mar y los sustratos artificiales) para que se liberen las carposporas. El periodo experimental tuvo una duración de 28 días. Los resultados muestran mejor asentamiento en el sustrato de rafia ( $p > 0.05$ ), así como un mayor crecimiento del disco de fijación para las cuerdas de nylon y rafia ( $p > 0.05$ ) en comparación con las cuerdas de polipropileno ( $p < 0.05$ ), dado a las características físicas superficiales que presentan las cuerdas de rafia.

Palabras claves: *Chondracanthus chamissoi*, crecimiento, asentamiento, sustratos artificiales, rugosidad.

## Abstract

*Chondracanthus chamissoi* is a red macroalgae extracted along the Peruvian coast, due to its commercial importance for direct human consumption. However, despite its importance, in Peru there is little research aimed at the development of its cultivation. Therefore, the present study evaluated the settlement and growth of *C. chamissoi* carpospores on three types of artificial substrate (nylon, raffia and polypropylene) under semi-controlled laboratory conditions. Fertile cystocarpic individuals from Mendieta beach (14 ° 3'S; 76 ° 15'O) were used, which were induced to sporulate by osmotic stress and later placed on the experimental systems (containers with seawater and artificial substrates) to be release the carpospores. The experimental period lasted 28 days. The results show better settlement in the raffia substrate ( $p > 0.05$ ), as well as a higher growth of the fixation disc for the nylon and raffia ropes ( $p > 0.05$ ) compared to the polypropylene ropes ( $p < 0.05$ ), given to the superficial physical characteristics that the raffia ropes present.

Key words: *Chondracanthus chamissoi*, growth, settlement, artificial substrates, roughness.

## Introduction

*Chondracanthus chamissoi* is a red seaweed, part of Gigartinaceae family, endemic of Pacific warm coasts in South America, with a distribution that involves Paita region, Perú (5°) until Ancud, Chile (42°S) (Vásquez and Vega 2001; Ávila et al. 2011; Arbaiza 2019). In Peru it has been used as food source, its consumption starting since pre-Inca times as “yuyo”, and nowadays is being used in Peruvians cuisine in fresh form in different plates (Carbajal et al 2005 a, b). It is one of the most abundant seaweeds in Peruvian coast and the basis of local fishermen economy who work in its extraction manually or independent diving along the coast (Acleto 1986; Carbajal et al. 2005 a, b). Nevertheless, this marine resource finds itself in risk due to the high extractive demands and overexploitation it presents (Flores et al. 2015).

Culture of *C. Chamissoi* takes place mainly under two techniques: vegetative culture, which is based in the regeneration of the frond previously chopped, with the advantage of obtaining genetic and phenotypic similar organisms to the original thallus (Sáez et al 2008; Bulboa et al. 2013). On the other side, spore-based culture generates new organisms with different genotypes and could present high yield due to the great spore amount produced from a low reproductive seaweed biomass (Bulboa et al. 2019); some related studies have been done in Peru (Castañeda et al. 2017; Castañeda et al. 2018; Arbaiza et al. 2019) and Chile (Alveal et al. 1999; Macchiavello et al. 2003; Ávila et al. 2011; Bulboa 2006; Bulboa and Macchiavello 2001). On the same way, there have been reports about problems with survival, spore release, low growing rates and epibiont organisms in spore cultures (Bulboa y Macchiavello 2006; Bulboa et al. 2005; Bulboa 2007). In spite of that, *C. chamissoi* spore production in controlled and semi-controlled media represents a big advantage due to the ease in its handling and high potential of production (Bulboa et al. 2013; Macaya 2001).

On the other side, during harvesting process one must take into account factors such as temperature, light period, nutrient concentration and pH to ensure its success (Agrawal 2009), as well as substrate superficial structure is a relevant factor because it is the physical medium in which the seeds will develop (Navarro 2000). Characteristics such as texture, hardening, roughness and substrate heterogeneity are determinant for spore development over artificial substrate, taking in count strings as efficient substrate and ease handling for culture process with production purposes (Foster 1980). This way, an adequate substrate will optimize recruitment, settling y spore viability (Fletcher and

Callow 1992; Buschmann et al. 2008; Águila 2015). Taking that in count, this study's objective is to determine the settling and growth of *C. chamissoi* carpospores over three different substrates (nylon, raffia and polypropylene) under semi-controlled conditions in laboratory.

## Methodology

### *Design, preparation, and treatment of artificial substrates*

Prior to the development of the experimental phase, the settling systems (frames) were elaborated which consisted of rectangular frames armed with PVC tubes (half an inch) of 33 cm long and 23 cm wide, on which the different ropes were wound (artificial substrates) to be evaluated: nylon (5mm in diameter), raffia (7mm in diameter) and polypropylene (7mm in diameter). Three frames were made for each type of rope (experimental units) and all had an effective area of 610 cm<sup>2</sup>. In each frame, 15 ropes of 2.5 cm in length were included as experimental units randomly distributed on each settlement system, it should be noted that they were the same type of rope as the frame (Fig. 1).

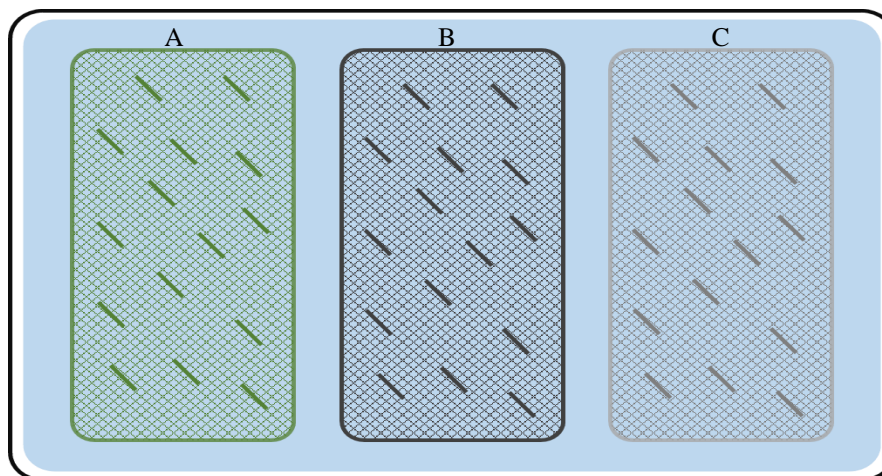


Figure 1. Representation of the distribution of the fifteen experimental units, (A) raffia, (B) polypropylene and (C) nylon.

Subsequently, the racks were submerged in 40L capacity vats with seawater for a period of four weeks in order to induce the formation of bacterial biofilms and favor the recruitment and settlement of carpospores (Maggs and Callow 2003; Agrawal 2009). Likewise, weekly water changes were made and commercial nutrient Byfolan® was added in a proportion of 0.1 ml L<sup>-1</sup>. The culture conditions were kept constant during the four weeks of evaluation: 12:12 photoperiod (Light: darkness), temperature between 16



$\pm 1.38$  °C, salinity between  $38 \pm 0.81$  ups, 143 Lux (irradiance of  $4 \mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  approximately), pH in  $8 \pm 0.17$  and dissolved oxygen of  $7 \pm 1$  mg L<sup>-1</sup>.

The experimental procedures were realized at the Marine Culture Research Laboratory (LICMA) located in the district of San Andrés –Pisco.

### ***Collection and treatment of C. chamissoi***

The collection was realized by members of the Cooperativa de Pescadores Artesanales Algas Marinas (COTRAPLMAR), who, through autonomous diving, collected cystocarpic individuals of *C. chamissoi* from Playa Mendieta located in the Paracas National Reserve ( $14^{\circ} 3' 23.4''$  'S,  $76^{\circ} 15' 39.6''$  'O). Subsequently, they were hermetically transferred at 10 °C to the LICMA facilities. Once in the laboratory, the plant material went through a cleaning and disinfection process that consisted of washing the fronds with a sodium hypochlorite solution (1%) for 10 seconds, to eliminate epiphytes, impurities and other microorganisms. adhered. Subsequently, the fronds of *C. chamissoi* were rinsed and washed with abundant sea water, rubbing gently, to avoid breaking them and to eliminate the rest of impurities.

### ***Induction to sporulation***

The carposporophytic fronds were induced to sporulate, by desiccation stress (sun exposure) between 25 to 30 minutes, considering a consistency of partial dehydration (sticky texture). Once this time had elapsed, the seedlings were separated into three groups of 500 grams and placed on silverside meshes with a 25.4 mm opening (proportional to the size of the container) that were installed on the cultivation systems with the racks, to promote rain of spores throughout the area of the settlement system, 500 grams of algae was homogeneously distributed over the entire mesh and they were completely submerged in the water to trigger the spore rain during the first 48 hours after starting the experimental process. After this time, the algae, already sporulated, were removed and three samples of each type of rope were taken to calculate the initial amount of settled spores where a value of at least 400 - 450 spores cm<sup>-2</sup> was obtained, of each experimental unit.

### *Settlement on ropes*

The settlement in ropes was evaluated weekly, in each sampling unit on each treatment, using a stereoscope (Leica EZ4E), likewise, half of the formula of the lateral area of a cylinder (AL) was applied, due to the fact that the accounting it was only realized in the area exposed to the rain of spores:

$$AL = \frac{2 * \pi * r * h}{2}$$

Where "r" is the radius of the evaluated rope and "h" is the height (2.5 cm). It should be noted that, during the first week of evaluation, aeration was not placed in the system, in order to avoid the dispersion of spores towards unwanted areas of settlement.

### *Growth assessment*

For the evaluation of growth, the growth of the fixation discs was measured weekly, in each sampling unit. Measurements were made using Leica model: EZ4E stereoscope software. With the data obtained from the measurements made for each substrate, the relative growth rate was determined with the following formula proposed by Bulboa (2010) considering the weekly growth:

$$GR(\%) = \left\{ \left[ \left( \frac{Lf}{Li} \right)^{t^{-1}} \right] - 1 \right\} * 100$$

Where GR is the relative growth rate, Lf is the final length, Li is the initial length and t is the period of time expressed in days of the culture.

### *Statistic analysis*

The R Studio program was used for data analysis. The settlement of carospores and the evaluation of growth were analyzed with non-parametric tests because they were significant for the Shapiro-Wilks and Bartlett tests ( $P < 0.05$ ). Therefore, the non-parametric Kruskal-Wallis test was used, in order to make comparisons of each variable between nylon, raffia and polypropylene ropes.

## **Results**

### *Settlement on ropes*

Settlement of *C. chamissoi* carospores was evidenced for the three substrates evaluated (Fig. 2). The highest settlement was obtained in the raffia ropes with  $316 \pm 96.90$

germinating carospores  $\text{cm}^{-2}$  ( $p < 0.05$ ), showing significant differences with the nylon ropes which presented  $185 \pm 38.55$  germinating carospores  $\text{cm}^{-2}$  and polypropylene rope with  $170 \pm 48.17$  germinating carospores  $\text{cm}^{-2}$  ( $p > 0.05$ ) (Table 1). As the evaluation weeks passed, a decrease in the settlement density of the germinating tetrasporophytes was observed (Fig. 3).

Table 1. Density of germinating tetrasporophytes from *C. chamissoi* carospores per  $\text{cm}^2$  for nylon, raffia and polypropylene substrates at 28 days of evaluation.

Treatment	Mean $\pm$ DE	Maximum	Minimum
Nylon	$185 \pm 38.55^b$	223	105
Raffia	$316 \pm 96.90^a$	524	211
Polypropylene	$170 \pm 48.17^b$	244	97

<sup>a,b</sup> Different letters indicate significative differences from Kruskal-Wallis test ( $\alpha = 0.05$ ).

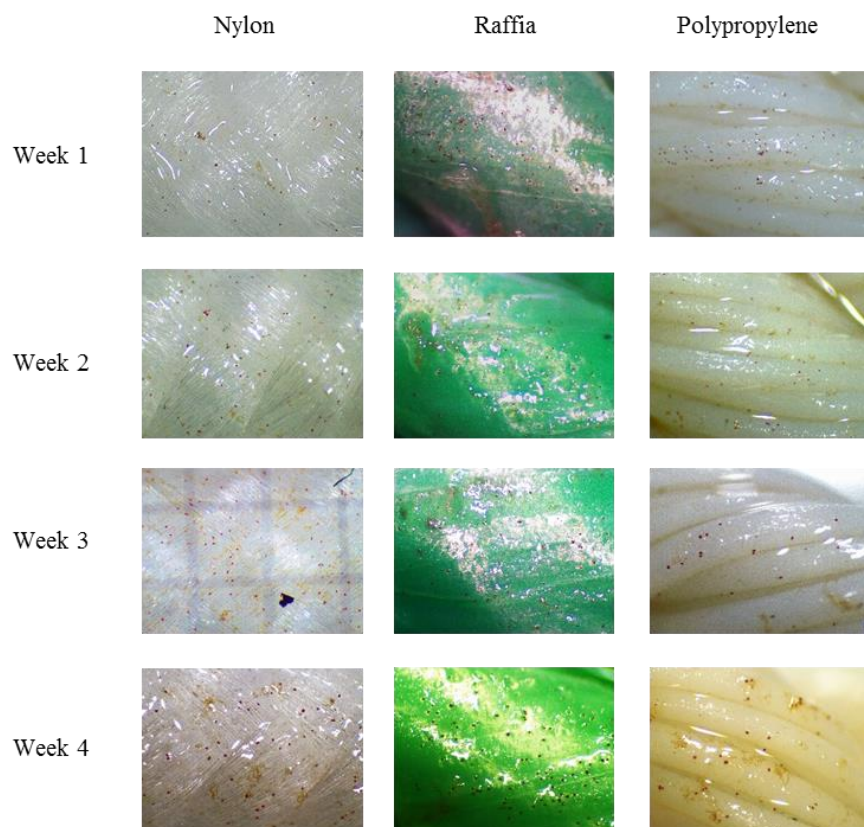


Figure 2. Weekly evaluation of the density of germinating tetrasporophytes of *C. chamissoi* for four weeks on nylon, raffia and polypropylene ropes under semi-controlled conditions.

**Basal disc growth**

The length of the basal disc was significantly longer for the nylon ropes with  $40.04 \pm 6.62$   $\mu\text{m}$ , followed by raffia with  $38.65 \pm 5.01$   $\mu\text{m}$  and polypropylene with  $32.97 \pm 5.42$   $\mu\text{m}$  ( $p < 0.05$ ) (Table 2). Likewise, the growth rate of the basal disc was higher for nylon ropes with 4.78%, followed by raffia ropes with 4.63% and polypropylene with 4.02% (Table 2, Figure 2).

Table 2. Length ( $\mu\text{m}$ ) of basal discs and growth rate (GR%) of *C. Chamissoi* on artificial substrates at 28 days of evaluation

Substrate	Length ( $\mu\text{m}$ )	GR (%)
Nylon	$40.04 \pm 6.62a$	4.78
Raffia	$38.65 \pm 5.01a$	4.63
Polypropylene	$32.97 \pm 5.42b$	4.02

a,b Different letters indicate significative differences from Kruskal-Wallis test ( $\alpha = 0.05$ )

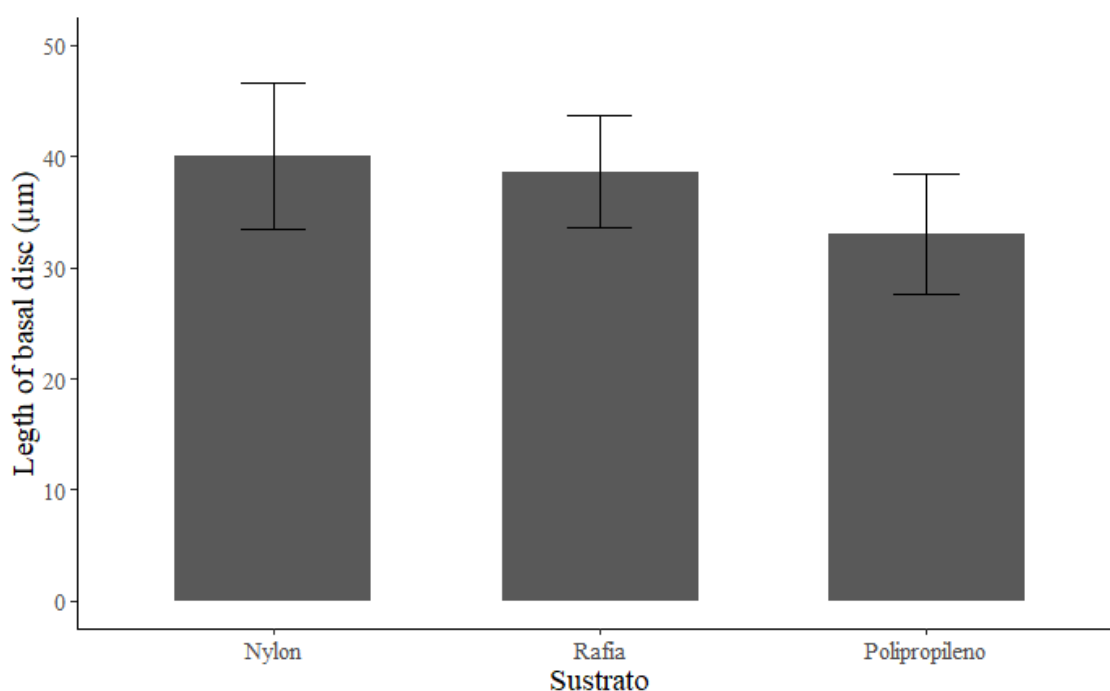


Figure 3. Length ( $\mu\text{m}$ ) of basal disc on the nylon, raffia and polypropylene substrates evaluated at 28 days of evaluation.

**Discussion**

The assessment related to spores have been focused, in the majority of cases, on improving physicochemical parameters to optimize spores development and growth

(Agrawal 2009). However, between abiotic factors, another alternative to enhance spore development, is the use of artificial substrates as ropes, consequently, substrates type and texture are principal characteristics for the beginning of the settlement and development during the first life stages (Alveal 2001).

### ***Settlement on ropes***

Different settlement densities have been evidenced for the three evaluated substrates (table 1), and we demonstrated that spores have affinity for raffia substrate, followed by nylon ropes and polypropylene (Figura 2), in the last substrate, we observed minor density, because surface roughness characteristics of the substrate, which did not allowed the successful fixation and development of the spores, because this type of rope present a smooth surface (Fletcher and Callow 1992; Navarro 2000). Irwani (2013), counted a grated number of settlement and development of *Gracilaria gigas* spores on raffia ropes with 80 thallus  $\text{cm}^{-2}$ , followed by nylon ropes with around 40 thallus  $\text{cm}^{-2}$  during two months of evaluation, in contrast to the present investigation, a grated amount density of settlement raffia ropes ( $316 \pm 96.90$  germinating tetrasporophytes  $\text{cm}^{-2}$ ) as same as nylon ropes ( $185 \pm 38.55$  germinating tetrasporophytes  $\text{cm}^{-2}$ ) in a shorter period of time; because if we have more days of cultivation, is possible to exist a major growth and development of settled individuals, however, those individuals that are not yet sufficiently fixed to the substrate, may detach from their place of settlement or perish due to competition for light, nutrients or overdensity (Alveal et al. 1997). In the same way, Castañeda et al. (2017), observed  $173 \pm 5.3$  seated spores  $\text{cm}^{-2}$  of *C. chamissoi* on raffia ropes for 60 days, compared to the present study, this result is lower than ours, because we founded germinating tetrasporophytes  $\text{cm}^{-2}$  in a shorter period of time.

Interaction in case of physical aspects, artificial substrates, allowing the sink and settlement of the spores (Irwani 2013; Hoffman 1987). The three assessed substrates present differences in roughness and heterogeneity on contact surface, features that are suitable to allow a correct adhesion and posterior growth of basal disc (Lobban y Harrison 1994; Fletcher and Callow 1992). The major settlement is evident on raffia ropes, is due to the roughness surface, heterogeneous and the discontinuous pattern that has, as same as, nylon ropes preserve the same characteristics, but with a different pattern in the interlaced yarns that are part of the formation. On the other hand, polypropylene ropes are characterised by having an interlaced more thick, where every filament that is connected is to form the rope and have a smooth texture.

Studies realized by Foster (1980) and Fletcher and Callow (1992), mention that smooth textures favor the sliding of spores, not allowing and reducing settlement in substrates with this type of characteristics, therefore in this study, the substrate of polypropylene was the least appropriate compared to the nylon and raffia substrates. In addition, it must be considered that, under uncontrolled conditions, the environment where *C. chamissoi* lives and develops are rocky areas of the intertidal and subtidal areas (Acleto 1986), where the natural substrates present surfaces with imperfections and roughness that allow adequate settlement. , fixation and development of the spore fixation disc (Alveal and Romo 1995). Likewise, Maggs and Callow (2003), mention that substrates with rough surfaces provide protection in the natural environment against desiccation (water reserve), wave action, herbivory predation and competition (Harlin and Lindbergh 1977), they also indicate that spores they have greater compatibility with substrates of immiscible surfaces with water, this suggests the separation between the aqueous zone and the interface formed with the spores and the substrate; the latter, covered by the microbial biofilm, which controls settlement and encourages changes in the physical and surface properties of the substrate (Maggs and Callow 2003).

### ***Growth of the fixation disc***

The measurement and growth rates of the fixing discs show higher values, both for the nylon ropes such as raffia ropes, not showing significant differences between them, compared to the polypropylene ropes ( $p > 0.05$ ) (Figure 3). Bulboa et al. (2010) obtained higher growth rates of the *C. chamissoi* fixation disc for Lechagua locality, with a growth rate of  $9.3 \pm 0.2\% \text{ d}^{-1}$  and a lower growth rate for La Calderilla locality with  $5.3 \pm 0.4\% \text{ d}^{-1}$ , values that exceed the growth rates compared to our results, where the growth rate for the fixation discs varied between 4.02 - 4.78%. It should be noted that Bulboa (2010), used an irradiance of  $60 \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , in our case this value was  $4 \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , it is due to this factor, which is attributed better growth rates, furthermore, it should be considered that within the conditioning parameters of spore development is the photonic flux (Bulboa and Macchiavello 2001; Agrawal 2009).

Castañeda et al. (2017), obtained *C. chamissoi* fixing discs with sizes between 930-985  $\mu\text{m}$ , compared to our results, the largest size was obtained in nylon and raffia ropes, these being important different from polypropylene ropes ( $P < 0.05$ ), however, it must be considered that the present study had an experimental time of four weeks compared to the study by Castañeda et al. (2017), who had an experimental period of 60 days. Settlement,

development of the attachment disc and germination are closely related to the topographic conditions and texture of the substrate, characteristics that are vital in the continued survival of the species (Maggs and Callow 2003, Pacheco-Ruíz et al. 2005).

That is why it is convenient to realized crops with ropes based on synthetic fibers, derived from plastic, which benefit the handling at the time of cultivation and which can also be manufactured with adequate physical patterns to achieve the development of the settlement and fixation of spores (Macaya 2001; Foster 1980). The results show that the raffia ropes (paper rope) have adequate surface physical characteristics, which promote a higher settlement and growth rate. Therefore, for this study, it has proven to be the most suitable substrate to start a culture of carpospores in controlled conditions of *C. chamissoi*.

### **Acknowledgements**

This work was funded by the state entity INNOVATE Peru thanks to Agreement No. 234-INNOVATE PERU-IAPIP-2017. Likewise, the Cooperativa de Pescadores Artesanales Algas Marinas (COTRAPALMAR) is thanked for providing raw material to this project.

### **Bibliography**

- Acleto C (1986) Algunos aspectos biológicos de *Gigartina chamissoi* (C. Ag.) J. Agardh (Rhodophyta, Gigartinales). Revista de Ciencias Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 74(1): 38-47.
- Agrawal S (2009) Factors affecting spore germination in algae - review. Folia Microbiológica, 54(4), 273–302. <http://doi.org/10.1007/s12223-009-0047-0>.
- Águila G M (2015) Efecto de variables ambientales en el crecimiento de microtalos de *Gracilaria chilensis* Bird, McLachlan & Oliveira (Rhodophyta, Gigartinales). Universidad Austral de Chile.
- Alveal K (2001). Estrategias reproductivas de Rhodophyta y sus nexos con biodiversidad. Sustentabilidad de la biodiversidad, 367-388.
- Alveal K, Romo H (1995) Técnicas para el cultivo experimental, medición del crecimiento y manejo de las poblaciones de Mazaella. En: Manual de Métodos Ficológicos. Alveal K., Ferrairo M.E., Oliveira E.C. & Sar, E. (Eds.). Universidad de Concepción, Chile. 563-575.

- Alveal K, Romo H, Werlinger C, Oliviera E (1997) Mass cultivation of the agar-producing alga *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) from spores. *Aquaculture* 148:77–83
- Alveal K, Romo H, Werlinger C, Vallejos P, Alveal A, Alveal A (1999) Desarrollo inicial de *Chondracanthus chamissoi* sobre sustrato artificial. In Resúmenes del Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Perú (pp. 14-16).
- Arbaiza S, Gil-Kodaka P, Arakaki N, Alveal K (2019) Primeros estadios de cultivo a partir de carposporas de *Chondracanthus chamissoi* de tres localidades de la costa peruana. *Revista de biología marina y oceanografía* 54(2): 204-213.
- Ávila M, Piel M, Cáceres J, Alveal K (2011) Cultivation of the red alga *Chondracanthus chamissoi*: sexual reproduction and seeding production in culture under controlled conditions. *J. Appl. Phycol.* 23:529– 536. <http://doi.org/10.1007/s10811-010-9628-1>.
- 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. *InvestMar* 34:109–112.
- Bulboa C, Macchiavello J, Oliveira E, Fonck E (2005) First attempt to cultivate the carrageenan-producing seaweed *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützting (Rhodophyta; Gigartinales) in Northern Chile. *Aquac Res* 36:1069–1074. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01321.x>.
- Bulboa C, Pérez I, Contreras-Porcía L, Zapata J, Castañeda F, Ramírez M, Gil- Kodaka P, (2019) Concise review of genus *Chondracanthus* (Rhodophyta: Gigartinales). *Journal of Applied Phycology*, 1-13.
- Bulboa C, Véliz K, Sáez F, Sepúlveda C, Vega L, Macchiavello J (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. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.018>.
- Bulboa C, Macchiavello J, Véliz K, Macaya E, Oliveira E (2007) In vitro recruitment of *Ulva* sp. and *Enteromorpha* sp. on gametophytic and tetrasporophytic thalli of four populations of *Chondracanthus chamissoi* from Chile. *Journal of Applied Phycology*, 19(3), 247-254.



- Bulboa C, Macchiavello J, Véliz K, Oliveira E (2010) Germination rate and sporeling development of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) varies along a latitudinal gradient on the coast of Chile. *Aquatic Botany*, 92: 137–141.
- 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). *Botanica Marina*, 44(4), 371-374.
- Buschmann A H, Hernández-González M, Varela D (2008) Seaweed future cultivation in Chile: Perspectives and challenges. *International Journal of Environment and Pollution* 33(4), 432–456. <http://doi.org/10.1504/IJEP.2008.020571>.
- Carbajal W, J De la Cruz, J Galán (2005a) Prospección del recurso *Chondracanthus chamissoi* “cochayuyo” en la caleta de Cherrepe (Lambayeque), Julio 2005, 2 pp. Instituto del Mar del Perú, Lambayeque.
- Carbajal W, J Galán, J De la Cruz (2005b) Prospección del recurso *Chondracanthus chamissoi* “cochayuyo” en la playa de Huanchaco (Trujillo), Junio-Julio 2005, 2 pp. Instituto del Mar del Perú, Trujillo.
- Castañeda M, Diaz F, Castillo Y, Arbaiza S, Baltazar P (2017) Asentamiento de carposporas de *Chondracanthus chamissoi* sobre cuerdas de polietileno (cabo papelillo) en condiciones semi-controladas de laboratorio. VI Congreso latinoamericano de biotecnología algal (CLABA).
- Castañeda M, Arbaiza S, Diaz F, Castillo Y, Baltazar P, Advíncula O (2018) Evaluación del fotoperiodo en el asentamiento de tetrasporas de *Chondracanthus chamissoi* sobre cuerdas de polipropileno en condiciones semi-controladas de laboratorio. In *Anales Científicos* (Vol. 79, No. 2, pp. 459-465). Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Fletcher R, Callow M (1992) The settlement, attachment and establishment of marine algal spores. *British Phycological Journal*, 27(3), 303–329. <http://doi.org/10.1080/00071619200650281>.
- Flores D, Zavala J, Donayre S, Guardia A, Sarmiento H (2015) Evaluación poblacional de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh, 1820) en las bahías de Pisco y Paracas, Otoño 2010. Instituto del Mar del Perú (Vol. 42).

- Foster M (1980) The use of substratum manipulations in field studies of seaweed colonization and growth. In: Pacific Seaweed Aquaculture. Abbott I. A., Foster M. S. & Ekund L. F. (Eds.). Publ. California Sea Grant. Coll. Program, La Jolla. USA: 23-31.
- Harlin M M, Lindbergh J M (1977) Selection of substrata by seaweeds: optimal surface relief. *Marine Biology*, 40(1), 33-40.
- Hoffman A (1987) The arrival propagules at the shore: A review. *Bot. Mar.* 30: 151-165.
- Irwani I (2013) Spores setting of *Gracilaria gigas* (Rhodophyta, Gracilariales) in different artificial substrates. *Buletin Oseanografi Marina*, 2, 48–50.
- Lobban C, Harrison P (1994) Morphology, life histories and morphogenesis. In *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press (pp. 1–68). Cambridge. <http://doi.org/10.1017/CBO9780511626210.002>.
- Macaya E (2001) Uso de carposporas para el cultivo de *Chondracanthus chamissoi*: inducción a la esporulación y asentamiento en diferentes sustratos. Tesis para optar al título de Biólogo Marino, Universidad Católica del Norte.
- Macchiavello J, Bulboa C, Edding M (2003) Vegetative propagation and spore-based recruitment in the carrageenophyte *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales, Rhodophyta) in northern Chile. *Phycol Res* 51:45–50.
- Maggs AA, Callow ME (2003) Algal Spores. *Encyclopedia of life sciences*. Nature Publishing group, London, version 1.0, 1-6p. <http://doi.org/10.1038/npg.els.0000311>.
- Navarro N (2000) Implantación de esporas de macroalgas y crecimiento sobre sustratos sintéticos. Primeros estadios de desarrollo. Tesis de grado para optar al título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción. Chile. 59 pp.
- Pacheco-Ruíz I, Zertuche-González JA, Espinoza-Avalos J (2005) The role of secondary attachment discs in the survival of *Chondracanthus squarrulosus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia* 44:629– 631. doi: 10.2216/0031-8884(2005)44[629:TROSAD]2.0.CO;2.

Sáez F, Macchiavello J, Fonck E, Bulboa C (2008) The role of the secondary attachment disc in the vegetative propagation of *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales; Rhodophyta). *Aquatic Botany*, 89(1), 63-65.

Vásquez J, Vega J (2001) *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile: ecological aspects for management of wild populations. *J Appl Phycol* 13:267–277. <http://doi.org/10.1023/A:1011152922832>

## Introducción

*Chondracanthus chamissoi* es una macroalga roja, perteneciente a la familia Gigartinaeae, endémica de las costas templadas del pacífico sudamericano distribuyéndose desde Paita, Perú (5°) hasta Ancud, Chile (42°S) (Vásquez y Vega 2001; Ávila et al. 2011; Arbaiza 2019). En el Perú ha sido utilizada como fuente de alimento, consumida desde la época pre-inca como “yuyo”, y en la actualidad es utilizada en la gastronomía nacional, en estado fresco, para la elaboración de diversos platos (Carbajal et al. 2005 a, b). Es una de las algas más abundantes de la costa peruana y sustenta la economía de diversos grupos de pescadores locales que se dedican a la actividad extractiva del recurso de forma manual o por buceo autónomo, a lo largo de la costa (Acleto 1986; Carbajal et al. 2005 a, b). Sin embargo, este recurso marino se encuentra en riesgo debido a la alta presión extractiva y sobreexplotación que presenta (Flores et al. 2015).

El cultivo de *C. chamissoi* se realiza principalmente mediante dos técnicas: el cultivo vegetativo, el cual consiste en la regeneración de frondas previamente fragmentadas, cuya ventaja es la de obtener organismos genética y fenotípicamente similares de un talo parental original (Sáez et al. 2008; Bulboa et al. 2013). Por otro lado, el cultivo vía esporas, genera individuos con diferentes genotipos y podría tener altos rendimientos debido a la gran cantidad de esporas que se producen a partir de una baja biomasa de individuos reproductivos (Bulboa et al. 2019); algunos trabajos relacionado a ello, han sido realizados en Perú (Castañeda et al. 2017; Castañeda et al. 2018; Arbaiza et al. 2019) y Chile (Alveal et al. 1999; Macchiavello et al. 2003; Ávila et al. 2011; Bulboa 2006; Bulboa y Macchiavello 2001). Así mismo, se han reportado algunos problemas vinculados a la supervivencia, liberación de esporas, bajas tasas de crecimiento y epibiontes, en el cultivo a partir de esporas (Bulboa y Macchiavello 2006; Bulboa et al. 2005; Bulboa 2007). A pesar de ello, la obtención de esporas de *C. chamissoi* en medios controlados o semi-controlados representa una gran ventaja debido a la facilidad en su manejo y a la alta producción que potencialmente se obtendría (Bulboa et al. 2013; Macaya 2001).

Por otro lado, durante el proceso de cultivo, factores como la temperatura, fotoperiodo, concentración de nutrientes y pH son tomados en cuenta para asegurar su éxito (Agrawal 2009), del mismo modo, la estructura superficial del sustrato, es un factor relevante dado que es el medio físico donde se desarrollarán los inóculos (Navarro 2000). Características

como la textura, dureza, rugosidad y heterogeneidad del sustrato, son determinantes para el desarrollo de las esporas sobre los sustratos artificiales, considerando las cuerdas como sustratos eficientes y de fácil manejo para un proceso de cultivo con fines productivos (Foster 1980). De esta manera un sustrato adecuado optimizará el reclutamiento, asentamiento y viabilidad de las esporas (Fletcher y Callow 1992; Buschmann et al. 2008; Águila 2015). Debido a lo señalado anteriormente, el objetivo del presente estudio fue determinar el asentamiento y crecimiento de carposporas de *C. chamissoi* sobre tres tipos de sustratos (nylon, rafia y polipropileno) en condiciones semi-controladas de laboratorio.

## Materiales y Metodos

### *Diseño, preparación y tratamiento de sustratos artificiales*

Previo al desarrollo de la fase experimental, se elaboraron los sistemas de asentamiento (bastidores) que consistieron en marcos rectangulares armados con tubos de PVC (de media pulgada) de 33 cm largo con 23 cm ancho, sobre los cuales fueron enrollados las diferentes cuerdas (sustratos artificiales) a evaluar: nylon (5mm de diámetro), rafia (7mm de diámetro) y polipropileno (7mm de diámetro). Se elaboraron tres bastidores por cada tipo de cuerdas (unidades experimentales) y todos presentaron un área efectiva de 610 cm<sup>2</sup>. En cada bastidor se incluyeron 15 cuerdas de 2.5 cm de longitud como unidades de experimentales distribuidos aleatoriamente sobre cada sistema de asentamiento, cabe resaltar que eran del mismo tipo de cuerda que el bastidor (Fig. 1)

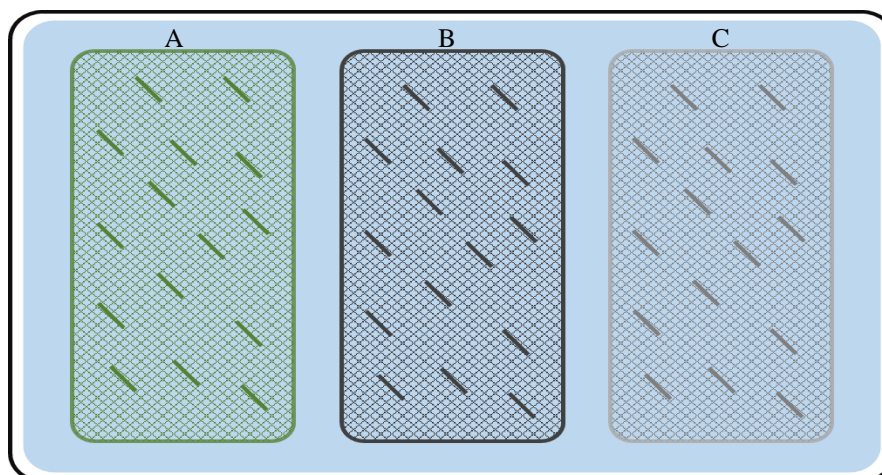


Figura 1. Representación de la distribución de las quince unidades experimentales, (A) rafia, (B) polipropileno y (C) nylon.

Posteriormente, los bastidores fueron sumergidos en tinas de 40L de capacidad con agua de mar, por un periodo de cuatro semanas con la finalidad de inducir la formación de

biopelículas bacterianas y favorecer el reclutamiento y asentamiento de carposporas (Maggs y Callow 2003; Agrawal 2009). Así mismo se realizaron recambios de agua semanales y se añadió nutriente comercial Byfolan® en proporción 0.1 ml L<sup>-1</sup>. Las condiciones del cultivo se mantuvieron constantes durante las cuatro semanas de evaluación: fotoperiodo de 12:12 (Luz: oscuridad), temperatura entre 16 ± 1.38 °C, salinidad entre 38 ± 0.81 ups, 143 Lux (irradiancia de 4 μmol foton.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> aproximadamente), pH en 8 ± 0.17 y oxígeno disuelto de 7 ± 1 mg L<sup>-1</sup>.

Los procedimientos experimentales fueron realizados en el Laboratorio de Investigación de Cultivos Marinos (LICMA) ubicado en el distrito de San Andrés -Pisco.

### ***Colecta y tratamiento de *C. chamissoi****

La colecta fue realizada por miembros de la Cooperativa de Pescadores Artesanales Algas Marinas (COTRAPLMAR), quienes mediante buceo autónomo colectaron individuos cistocárpicos de *C. chamissoi* de Playa Mendieta ubicada en la reserva Nacional de Paracas (14° 3' 23.4" S, 76° 15' 39.6" O). Posteriormente fueron trasladadas herméticamente a 10 °C a las instalaciones del LICMA. Una vez en el laboratorio, el material vegetal paso por un proceso de limpieza y desinfección que consistió en el lavado de las frondas con una solución de hipoclorito de sodio (1%) durante 10 segundos, para la eliminación de epifitos, impurezas y otros microorganismos adheridos. Posteriormente, las frondas de *C. chamissoi* fueron enjuagadas y lavadas con abundante agua de mar frotando suavemente, para evitar la ruptura de las mismas y eliminar el resto de las impurezas.

### ***Inducción a la esporulación***

Las frondas carposporofíticas fueron inducidas a esporular, mediante estrés por desecación (exposición solar) entre 25 a 30 minutos considerando una consistencia de deshidratación parcial (textura pegadiza). Una vez transcurrido este tiempo, las plántulas fueron separadas en tres grupos de 500 gramos y colocadas sobre mallas pejerrelleras de 25.4 mm de abertura (proporcional al tamaño del envase) que se encontraban instaladas sobre los sistemas de cultivo con los bastidores, para propiciar la lluvia de esporas en toda el área del sistema de asentamiento. Se distribuyó homogéneamente, sobre toda la malla, 500 gramos de alga y estuvieron completamente sumergidas en el agua para desencadenar la lluvia de esporas durante las primeras 48 horas de iniciado el proceso experimental. Transcurrido este tiempo, se retiraron las algas, ya esporuladas, y se procedió a sacar tres

muestras de cada tipo de cuerda para calcular la cantidad inicial de esporas asentadas donde se obtuvo un valor de por lo menos 400 - 450 esporas  $\text{cm}^{-2}$ , de cada unidad experimental.

### *Asentamiento sobre cuerdas*

El asentamiento en cuerdas fue evaluado semanalmente, en cada unidad de muestreo sobre cada tratamiento, utilizando un estereoscopio (Leica EZ4E), así mismo, se aplicó la mitad de la fórmula del área lateral de un cilindro (AL), debido a que la contabilización solo fue realizada en la zona expuesta a la lluvia de esporas:

$$AL = \frac{2 * \pi * r * h}{2}$$

Donde “r” es el radio de la cuerda evaluada y “h” es la altura (2.5 cm). Cabe resaltar que, durante la primera semana de evaluación, no se colocó aireación al sistema, con la finalidad de evitar la dispersión de esporas hacia zonas no deseadas de asentamiento.

### *Evaluación del crecimiento*

Para la evaluación del crecimiento, se midió semanalmente el crecimiento de los discos de fijación, en cada unidad de muestreo. Las mediciones se realizaron utilizando el software del estereoscopio Leica modelo: EZ4E. Con los datos obtenidos de las mediciones realizadas para cada sustrato, se determinó la tasa de crecimiento relativa con la siguiente fórmula propuesta por Bulboa (2010) considerando el crecimiento semanal:

$$TC(\%) = \left\{ \left[ \left( \frac{Lf}{Li} \right)^{t-1} \right] - 1 \right\} * 100$$

Donde TC es la tasa de crecimiento relativa, Lf es el Longitud final, Li es la longitud inicial y t el periodo de tiempo expresado en días del cultivo.

### *Análisis estadístico*

Se utilizó el programa R Studio para el análisis de datos. El asentamiento de carposporas y la evaluación del crecimiento, fueron analizadas con pruebas no paramétricas debido a que resultaron significativas para las pruebas de Shapiro-Wilks y Bartlett ( $P < 0.05$ ). Por lo cual se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis, con la finalidad de realizar las comparaciones de cada variable entre las cuerdas de nylon, rafia y polipropileno.

**Resultados**

*Asentamiento en cuerdas*

El asentamiento proveniente de carposporas de *C. chamissoi* fue evidenciado para los tres sustratos evaluados (Fig. 2). El mayor asentamiento se obtuvo en las cuerdas de rafia con  $316 \pm 96.90$  esporas germinantes  $\text{cm}^{-2}$  ( $p < 0.05$ ), mostrando diferencias significativas con las cuerdas de nylon las cuales presentaron  $185 \pm 38.55$  esporas germinantes  $\text{cm}^{-2}$  y las cuerdas de polipropileno con  $170 \pm 48.17$  esporas germinantes  $\text{cm}^{-2}$  ( $p > 0.05$ ) (Tabla 1). A medida que transcurrían las semanas de evaluación, se pudo evidenciar la disminución de la densidad de asentamiento de tetrasporofitos germinantes (Fig. 3).

Tabla 1. Densidad de tetrasporofitos germinantes proveniente de carposporas de *C. chamissoi* por  $\text{cm}^2$  para los sustratos de nylon, rafia y polipropileno a los 28 días de evaluación.

Tratamiento	Promedio $\pm$ DE	Máximo	Mínimo
Nylon	$185 \pm 38.55^b$	223	105
Rafia	$316 \pm 96.90^a$	524	211
Polipropileno	$170 \pm 48.17^b$	244	97

<sup>a,b</sup> Letras distintas indican diferencias significativas determinadas por la prueba de Kruskal- Wallis ( $\alpha=0.05$ ).

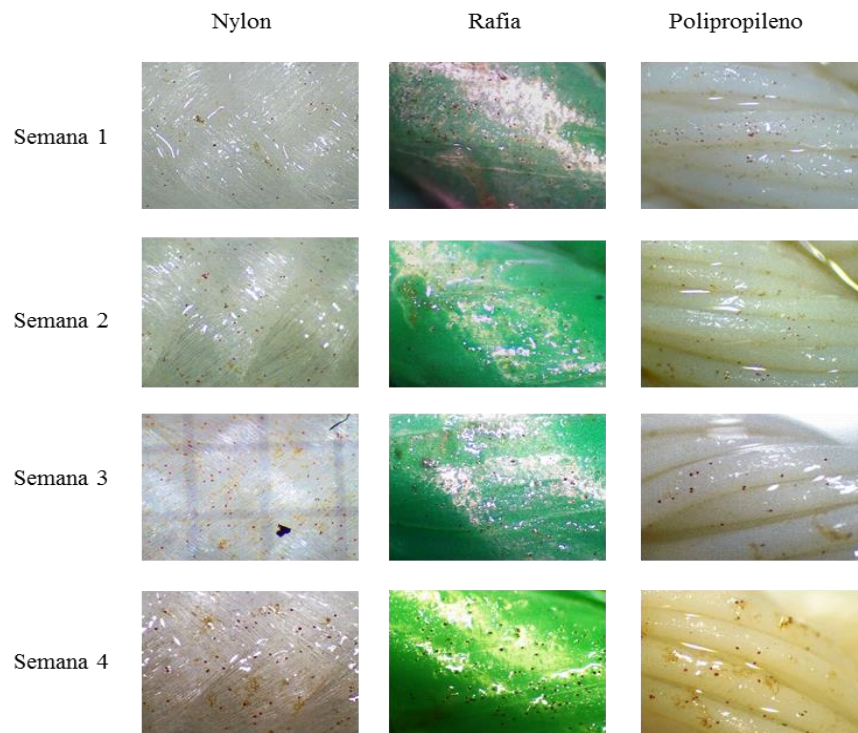




Figura 2. Evaluación semanal de la densidad de tetrasporofitos germinantes de *C. chamissoi* durante cuatro semanas en cuerdas de nylon rafia y polipropileno en condiciones semi-controladas.

**Crecimiento del disco de fijación**

La longitud de los discos de asentamiento fue significativamente mayor para las cuerdas de nylon con  $40.04 \pm 6.62 \mu\text{m}$ , seguida de rafia con  $38.65 \pm 5.01 \mu\text{m}$  y polipropileno con  $32.97 \pm 5.42 \mu\text{m}$  ( $p < 0.05$ ) (Tabla 2). Así mismo, la tasa de crecimiento del disco de fijación fue mayor para las cuerdas de nylon con 4.78%, seguidas de las cuerdas de rafia con 4.63% y polipropileno con 4.02 % (Tabla 2, Figura 3).

Tabla 2. Longitud ( $\mu\text{m}$ ) de discos de fijación y Tasa de crecimiento (TC %) de *C. Chamissoi* sobre los sustratos artificiales a los 28 días de evaluación.

Sustratos	Longitud ( $\mu\text{m}$ )	TC (%)
Nylon	$40.04 \pm 6.62^a$	4.78
Rafia	$38.65 \pm 5.01^a$	4.63
Polipropileno	$32.97 \pm 5.42^b$	4.02

<sup>a,b</sup> Letras distintas indican diferencias significativas determinadas por la prueba de Kruskal- Wallis ( $\alpha=0.05$ ).

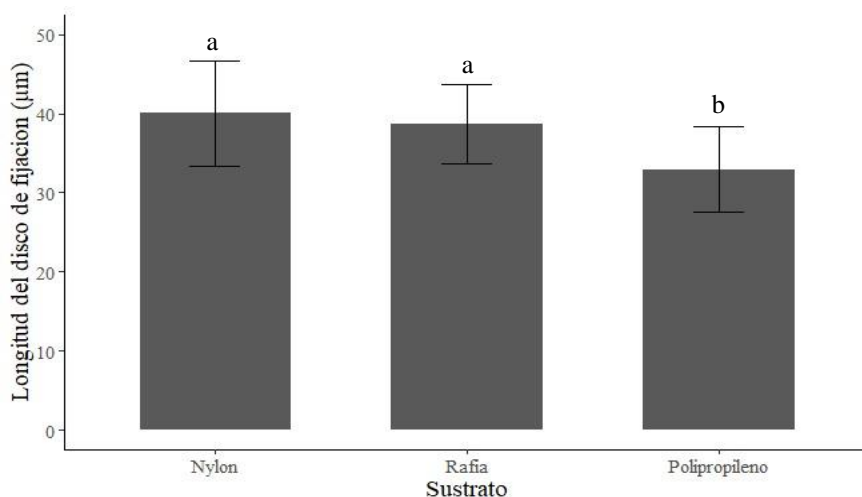


Figura 3. Longitud ( $\mu\text{m}$ ) de los discos de fijación en los sustratos evaluados de nylon, rafia y polipropileno a los 28 días de evaluación.

**Discusion**

Las evaluaciones relacionadas a esporas han sido enfocadas, en gran parte, en el mejoramiento de parámetros fisicoquímicos para optimizar el desarrollo y crecimiento de

las esporas (Agrawal 2009). Sin embargo, entre los factores abióticos, otra alternativa para mejorar el desarrollo de las esporas, es el uso de sustratos artificiales como las cuerdas, ya que el tipo y textura del sustrato son características principales para el inicio del asentamiento y desarrollo durante los primeros estadios de vida (Alveal 2001).

### *Asentamiento en cuerdas*

En los tres sustratos evaluados se ha evidenciado diferentes densidades de asentamiento (tabla 1), y se ha demostrado que existe una clara afinidad por el sustrato de rafia, seguido de las cuerdas de nylon y polipropileno (Figura 2), en este último sustrato, se observó menor densidad debido a las propias características superficiales de rugosidad del sustrato, el cual no permitió el éxito de fijación y desarrollo de las esporas, dado que esta presenta una superficie lisa (Fletcher y Callow 1992; Navarro 2000). Irwani (2013), contabilizó un mayor asentamiento y desarrollo de esporas de *Gracilaria gigas* en cuerdas de rafia con 80 talos  $\text{cm}^{-2}$ , seguida de cuerdas de nylon con alrededor de 40 talos  $\text{cm}^{-2}$  durante dos meses de evaluación, en contraste con la presente investigación, se obtuvo una cantidad mayor de densidad de asentamiento tanto para las cuerdas de rafia ( $316 \pm 96.90$  tetrasporofitos germinantes  $\text{cm}^{-2}$ ) como para las cuerdas de nylon ( $185 \pm 38.55$  tetrasporofitos germinantes  $\text{cm}^{-2}$ ) en un menor periodo de tiempo; dado que a más días de cultivo existiría un mayor crecimiento y desarrollo de los individuos asentados, sin embargo, aquellos individuos que aún no se encuentren lo suficientemente fijos al sustrato, podrán desprenderse de su lugar de asentamiento o perecer a causa de la competencia por luz, nutrientes y/o sobre densidad (Alveal et al. 1997). Del mismo modo, Castañeda et al. (2017), observaron  $173 \pm 5.3$  esporas asentadas  $\text{cm}^{-2}$  de *C. chamissoi* en cuerdas tipo cabo papelillo durante 60 días, en comparación con el presente estudio, este resultado es menor que el nuestro dado que nosotros encontramos  $316 \pm 96.90$  tetrasporofitos germinantes  $\text{cm}^{-2}$  en un menor periodo de tiempo.

La interacción de aspectos físicos, en los sustratos artificiales, facilitan el hundimiento y posterior asentamiento de las esporas (Irwani 2013; Hoffman 1987). Los tres sustratos evaluados presentan diferencias en los patrones de rugosidad y heterogeneidad en la superficie de contacto, características que son apropiadas para facilitar una correcta adhesión y posterior crecimiento del disco de fijación (Lobban y Harrison 1994; Fletcher y Callow 1992). El mayor asentamiento evidenciado en las cuerdas de rafia, es atribuido principalmente a la superficie rugosa, heterogeneidad y al patrón discontinuo que presenta; del mismo modo, las cuerdas de nylon conservan las mismas características, a diferencia

del patrón de los hilos entrelazados, que son parte de su formación. Por otro lado, las cuerdas de polipropileno se caracterizan por tener un entrelazado más grueso, donde cada filamento que se entrelaza para formar la cuerda tiene una textura lisa.

Estudios realizados por Foster (1980) y Fletcher y Callow (1992), mencionan que las texturas lisas propician el deslizamiento de las esporas impidiendo y reduciendo el asentamiento en sustratos con este tipo de características, por lo cual, en este estudio, el sustrato de polipropileno fue el menos adecuado en comparación con los sustratos de nylon y rafia. Además, se debe de considerar que, en condiciones no controladas, el medio donde habita y se desarrolla *C. chamissoi* son zonas rocosas del intermareal y submareal (Acleto 1986), donde los sustratos naturales presentan superficies con imperfecciones y rugosidades que permiten el adecuado asentamiento, fijación y desarrollo del disco de fijación de la espora (Alveal y Romo 1995). Así mismo, Maggs y Callow (2003), mencionan que los sustratos con superficies rugosas, proporcionan protección en medio natural contra la desecación (reserva de agua), la acción del oleaje, la depredación por herbivoría y la competencia (Harlin y Lindbergh 1977), también indican, que las esporas tienen mayor compatibilidad con sustratos de superficies inmiscibles con el agua, esto sugiere la separación entre la zona acuosa y la interface formada con las esporas y el sustrato; este último, cubierto por la biopelícula microbiana la cual controla el asentamiento y propicia los cambios en las propiedades físicas y superficiales del sustrato (Maggs y Callow 2003).

### ***Crecimiento del disco de fijación***

La medición y tasas de crecimiento de los discos de fijación, muestran mayores valores, tanto para las cuerdas de nylon como para rafia, no mostrando diferencias significativas entre sí, en comparación con las cuerdas de polipropileno ( $p > 0.05$ ) (Figura 3). Bulboa et al. (2010) obtuvieron mayores tasas de crecimiento del disco de fijación de *C. chamissoi* para la localidad de Lechagua, con una tasa de crecimiento de  $9.3 \pm 0.2 \% d^{-1}$  y una menor tasa de crecimiento para la localidad de La Calderilla con  $5.3 \pm 0.4 \% d^{-1}$ , valores que superan las tasas de crecimiento en comparación con nuestros resultados, donde la tasa de crecimiento para los discos de fijación varió entre 4.02-4.78 %. Cabe resaltar que Bulboa (2010), utilizó una irradianza de  $60 \mu\text{mol fotón } m^{-2}s^{-1}$ , en nuestro caso este valor fue de  $4 \mu\text{mol fotón } m^{-2}s^{-1}$ , es por este factor, que se le atribuye mejores tasas de crecimiento, además se debe considerar que dentro de los parámetros condicionantes del

desarrollo de esporas se encuentra el flujo fotónico (Bulboa y Macchiavello 2001; Agrawal 2009).

Castañeda et al. (2017), obtuvieron discos de fijación de *C. chamissoi* con tamaños entre 930- 985  $\mu\text{m}$ , en comparación con nuestros resultados, el mayor tamaño fue obtenido en las cuerdas de nylon y rafia siendo estas, significativamente diferentes de las cuerdas de polipropileno ( $P < 0.05$ ), sin embargo, hay que considerar que el presente estudio tubo un tiempo experimental de cuatro semanas en comparación con el estudio de Castañeda et al. (2017), quien tuvo un periodo experimental de 60 días. El asentamiento, desarrollo del disco de fijación y germinación, están vinculados estrechamente con las condiciones topográficas y textura del sustrato, características que son vitales en la supervivencia continua de la especie (Maggs y Callow 2003, Pacheco-Ruíz et al. 2005).

Es por ello que, resulta conveniente realizar cultivos con cuerdas a base de fibras sintéticas, derivadas del plástico, que benefician el manejo al momento de realizar un cultivo y que además puedan ser fabricados con patrones físicos adecuados para lograr el desarrollo del asentamiento y fijación de esporas (Macaya 2001; Foster 1980). Los resultados evidencian que las cuerdas de rafia (cabo papelillo) tienen características físicas superficiales adecuadas, que propician un mayor asentamiento y tasa de crecimiento. Por lo tanto, para este estudio, ha demostrado ser el sustrato más indicado para iniciar un cultivo de carposporas en condiciones controladas de *C. chamissoi*.

### **Agradecimientos**

Este trabajo fue financiado por la entidad estatal INNOVATE Perú gracias al Convenio N° 234-INNOVATE PERU-IAPIP-2017. Así mismo, se agradece a la Cooperativa de Pescadores Artesanales Algas Marinas (COTRAPALMAR) por proveer de materia prima al presente proyecto.

### **Bibliografía**

- Acleto C (1986) Algunos aspectos biológicos de *Gigartina chamissoi* (C. Ag.) J. Agardh (Rhodophyta, Gigartinales). Revista de Ciencias Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 74(1): 38-47.
- Agrawal S (2009) Factors affecting spore germination in algae - review. Folia Microbiológica, 54(4), 273–302. <http://doi.org/10.1007/s12223-009-0047-0>.

- Águila G M (2015) Efecto de variables ambientales en el crecimiento de microtalos de *Gracilaria chilensis* Bird, McLachlan & Oliveira (Rhodophyta, Gigartinales). Universidad Austral de Chile.
- Alveal K (2001). Estrategias reproductivas de Rhodophyta y sus nexos con biodiversidad. *Sustentabilidad de la biodiversidad*, 367-388.
- Alveal K, Romo H (1995) Técnicas para el cultivo experimental, medición del crecimiento y manejo de las poblaciones de Mazaella. En: *Manual de Métodos Ficológicos*. Alveal K., Ferrairo M.E., Oliveira E.C. & Sar, E. (Eds.). Universidad de Concepción, Chile. 563-575.
- Alveal K, Romo H, Werlinger C, Oliviera E (1997) Mass cultivation of the agar-producing alga *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) from spores. *Aquaculture* 148:77–83
- Alveal K, Romo H, Werlinger C, Vallejos P, Alveal A, Alveal A (1999) Desarrollo inicial de *Chondracanthus chamissoi* sobre sustrato artificial. In *Resúmenes del Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar*. Perú (pp. 14-16).
- Arbaiza S, Gil-Kodaka P, Arakaki N, Alveal K (2019) Primeros estadios de cultivo a partir de carposporas de *Chondracanthus chamissoi* de tres localidades de la costa peruana. *Revista de biología marina y oceanografía* 54(2): 204-213.
- Ávila M, Piel M, Cáceres J, Alveal K (2011) Cultivation of the red alga *Chondracanthus chamissoi*: sexual reproduction and seeding production in culture under controlled conditions. *J. Appl. Phycol.* 23:529– 536. <http://doi.org/10.1007/s10811-010-9628-1>.
- 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. *InvestMar* 34:109–112.
- Bulboa C, Macchiavello J, Oliveira E, Fonck E (2005) First attempt to cultivate the carrageenan-producing seaweed *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützinger (Rhodophyta; Gigartinales) in Northern Chile. *Aquac Res* 36:1069–1074. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01321.x>.

- Bulboa C, Pérez I, Contreras-Porcía L, Zapata J, Castañeda F, Ramírez M, Gil- Kodaka P, (2019) Concise review of genus *Chondracanthus* (Rhodophyta: Gigartinales). *Journal of Applied Phycology*, 1-13.
- Bulboa C, Véliz K, Sáez F, Sepúlveda C, Vega L, Macchiavello J (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. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.018>.
- Bulboa C, Macchiavello J, Véliz K, Macaya E, Oliveira E (2007) In vitro recruitment of *Ulva* sp. and *Enteromorpha* sp. on gametophytic and tetrasporophytic thalli of four populations of *Chondracanthus chamissoi* from Chile. *Journal of Applied Phycology*, 19(3), 247-254.
- Bulboa C, Macchiavello J, Véliz K, Oliveira E (2010) Germination rate and sporeling development of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) varies along a latitudinal gradient on the coast of Chile. *Aquatic Botany*, 92: 137–141.
- 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). *Botanica Marina*, 44(4), 371-374.
- Buschmann A H, Hernández-González M, Varela D (2008) Seaweed future cultivation in Chile: Perspectives and challenges. *International Journal of Environment and Pollution* 33(4), 432–456. <http://doi.org/10.1504/IJEP.2008.020571>.
- Carbajal W, J De la Cruz, J Galán (2005a) Prospección del recurso *Chondracanthus chamissoi* “cochayuyo” en la caleta de Cherrepe (Lambayeque), Julio 2005, 2 pp. Instituto del Mar del Perú, Lambayeque.
- Carbajal W, J Galán, J De la Cruz (2005b) Prospección del recurso *Chondracanthus chamissoi* “cochayuyo” en la playa de Huanchaco (Trujillo), Junio-Julio 2005, 2 pp. Instituto del Mar del Perú, Trujillo.
- Castañeda M, Diaz F, Castillo Y, Arbaiza S, Baltazar P (2017) Asentamiento de carposporas de *Chondracanthus chamissoi* sobre cuerdas de polietileno (cabo papelillo) en condiciones semi-controladas de laboratorio. VI Congreso latinoamericano de biotecnología algal (CLABA).

- Castañeda M, Arbaiza S, Diaz F, Castillo Y, Baltazar P, Advíncula O (2018) Evaluación del fotoperiodo en el asentamiento de tetrasporas de *Chondracanthus chamissoi* sobre cuerdas de polipropileno en condiciones semi-controladas de laboratorio. In Anales Científicos (Vol. 79, No. 2, pp. 459-465). Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Fletcher R, Callow M (1992) The settlement, attachment and establishment of marine algal spores. *British Phycological Journal*, 27(3), 303–329. <http://doi.org/10.1080/00071619200650281>.
- Flores D, Zavala J, Donayre S, Guardia A, Sarmiento H (2015) Evaluación poblacional de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh, 1820) en las bahías de Pisco y Paracas, Otoño 2010. Instituto del Mar del Perú (Vol. 42).
- Foster M (1980) The use of substratum manipulations in field studies of seaweed colonization and growth. In: Pacific Seaweed Aquaculture. Abbott I. A., Foster M. S. & Ekund L. F. (Eds.). Publ. California Sea Grant. Coll. Program, La Jolla. USA: 23-31.
- Harlin M M, Lindbergh J M (1977) Selection of substrata by seaweeds: optimal surface relief. *Marine Biology*, 40(1), 33-40.
- Hoffman A (1987) The arrival propagules at the shore: A review. *Bot. Mar.* 30: 151-165.
- Irwani I (2013) Spores setting of *Gracilaria gigas* (Rhodophyta, Gracilariales) in different artificial substrates. *Buletin Oseanografi Marina*, 2, 48–50.
- Lobban C, Harrison P (1994) Morphology, life histories and morphogenesis. In *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press (pp. 1–68). Cambridge. <http://doi.org/10.1017/CBO9780511626210.002>.
- Macaya E (2001) Uso de carposporas para el cultivo de *Chondracanthus chamissoi*: inducción a la esporulación y asentamiento en diferentes sustratos. Tesis para optar al título de Biólogo Marino, Universidad Católica del Norte.
- Macchiavello J, Bulboa C, Edding M (2003) Vegetative propagation and spore-based recruitment in the carrageenophyte *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales, Rhodophyta) in northern Chile. *Phycol Res* 51:45–50.

- Maggs AA, Callow ME (2003) Algal Spores. Encyclopedia of life sciences. Nature Publishing group, London, version 1.0, 1-6p. <http://doi.org/10.1038/npg.els.0000311>.
- Navarro N (2000) Implantación de esporas de macroalgas y crecimiento sobre sustratos sintéticos. Primeros estadios de desarrollo. Tesis de grado para optar al título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción. Chile. 59 pp.
- Pacheco-Ruíz I, Zertuche-González JA, Espinoza-Avalos J (2005) The role of secondary attachment discs in the survival of *Chondracanthus squarulosus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia* 44:629– 631. doi: 10.2216/0031-8884(2005)44[629:TROSAD]2.0.CO;2.
- Sáez F, Macchiavello J, Fonck E, Bulboa C (2008) The role of the secondary attachment disc in the vegetative propagation of *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales; Rhodophyta). *Aquatic Botany*, 89(1), 63-65.
- Vásquez J, Vega J (2001) *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile: ecological aspects for management of wild populations. *J Appl Phycol* 13:267–277. <http://doi.org/10.1023/A:1011152922832>.