

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN ACUICULTURA**



**"VIABILIDAD REPRODUCTIVA PARA EL CULTIVO DE  
*Chondracanthus chamissoi* PROVENIENTE DE TRES POBLACIONES  
DEL LITORAL PERUANO"**

Presentada por:

**SAMUEL JOSE ARBAIZA QUISPE**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER SCIENTIAE EN  
ACUICULTURA**

Lima – Perú

2016

Dedico este trabajo a mi familia, en especial a mis padres, a mi musa inspiradora y a todos mis colegas, profesores y amigos que día a día trabajan por el desarrollo del país.

## **AGRADECIMIENTOS**

Es difícil imaginar como hubiera podido realizar este trabajo sin el apoyo de muchas personas e instituciones las cuales de alguna u otra forma contribuyeron a su desarrollo. Quiero agradecer a todas las personas e instituciones que me apoyaron, a quienes simplemente me alentaron y confiaron en mí. Espero que la vida me de la oportunidad para poder responder a tanto cariño y confianza.

Quiero agradecer en primer lugar a mis asesoras: La Dra. Patricia Gil-Kodaka y la Dra. Natalia Arakaki quienes con experiencia, conocimiento y dedicación me orientaron a lo largo del desarrollo del proyecto y me enseñaron a ser un mejor profesional y una buena persona. Estaré siempre agradecido con ustedes. ¡Gracias totales!

Agradezco profundamente al Instituto del Mar del Perú (IMARPE) por brindarme las instalaciones para la realización de la presente investigación. En especial a la Dra. Carla Aguilar, al Dr. Arturo Aguirre, al Bgo. Luis De Lucio y a todos los colegas del área de Acuicultura por brindarme todas las facilidades disponibles.

A la Mg. Sc. Ing. Cecil Tenorio y a todos mis amigos del Laboratorio Banco de Germoplasma (IMARPE): Pedro, Hanna y Marco por enseñarme el valor del trabajo y la amistad, por darme todas las facilidades para el uso de equipos e instalaciones y sobre todo por brindarme un muy grato y cordial ambiente de trabajo. ¡Gracias totales!

A mis profesores de la UNALM de la Facultad de Ciencias y la Maestría de Acuicultura, en especial a la Mg. Sc. Beatriz Ángeles que con su dedicación, esfuerzo y buena voluntad me motivó a realizar un buen trabajo y a brindar todo de mí

Al Mg. Sc. Fernando Galecio por su alta exigencia que me enseñó a ser un mejor profesional y persona.

Un especial agradecimiento a CONCYTEC por el apoyo económico recibido como participante del Proyecto de la Maestría de Acuicultura (Convenio de Gestión N°017-2013-FONDECYT) lo que me permitió desarrollar el presente trabajo.

Finalmente a mis colegas Ernesto, Max, Jorge por brindarme abundante conocimiento para el desarrollo del presente trabajo y a todos mis amigos: Daniel “Big Hoss” y Miguel “el pelao”; a mis familiares: Junior “Cholo Bush”, Hector y mi pequeña hermana Lucerito por brindarme su apoyo y/o compañía en alguna etapa del presente trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
INDICE DE TABLAS.....	V
INDICE DE FIGURAS.....	VII
INDICE DE ANEXOS.....	IX
RESUMEN.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	3
2.1. Caracterización de la especie.....	3
2.2. Factores que afectan el cultivo de <i>C. chamissoi</i> .....	6
2.3. Cultivo de <i>C. chamissoi</i> a partir de esporas.....	11
2.4. Cultivo vegetativo de <i>C. chamissoi</i> .....	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1. Recolección y traslado del material biológico.....	17
3.2. Caracterización morfológica.....	19
3.3. Potencial reproductivo (PR).....	20
3.4. Cultivo a partir de carposporas.....	22
3.4.1. Determinación de la densidad del “caldo” de carposporas (Dc).....	22
3.4.2. Determinación del número de carposporas asentadas.....	24
3.4.3. Evaluación de crecimiento y desarrollo del cultivo.....	25
3.4.4. Evaluación de la supervivencia.....	26
3.5. Cultivo vegetativo por formación de Discos de fijación secundaria (DFS).....	26
3.5.1. Evaluación del número de DFS formados.....	26
3.5.2. Evaluación del crecimiento y desarrollo del cultivo.....	27
3.5.3. Evaluación de la supervivencia.....	28
3.6. Análisis estadístico.....	29
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30

4.1. Resultados .....	30
4.1.1. Caracterización morfológica .....	30
4.1.2. Potencial reproductivo (PR) .....	34
4.1.3. Cultivo a partir de carposporas.....	36
4.1.4. Cultivo vegetativo por formación de discos de fijación secundaria (DFS) .....	49
4.2. Discusión .....	57
V. CONCLUSIONES.....	69
VI. RECOMENDACIONES .....	70
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	72
VIII. ANEXOS .....	78

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Coordenadas referenciales de los puntos de colecta del material biológico.....	17
<b>Tabla 2.</b> Análisis morfológico de especímenes cistocárpicos de <i>C. chamissoi</i> .....	31
<b>Tabla 3.</b> Potencial reproductivo de <i>C. chamissoi</i> . .....	35
<b>Tabla 4.</b> Densidad del “caldo” de carposporas de <i>C. chamissoi</i> de Ancón. ....	36
<b>Tabla 5.</b> Densidad del “caldo” de carposporas de <i>C. chamissoi</i> de Paiján.....	36
<b>Tabla 6.</b> Densidad del “caldo” de carposporas de <i>C. chamissoi</i> de Mendieta.....	37
<b>Tabla 7.</b> Densidad de “caldos” de carposporas de las tres localidades de estudio. ....	37
<b>Tabla 8.</b> Número de carposporas asentadas en un cultivo de <i>C. chamissoi</i> de Ancón. ....	37
<b>Tabla 9.</b> Número de carposporas asentadas en un cultivo de <i>C. chamissoi</i> de Paiján.....	38
<b>Tabla 10.</b> Número de carposporas asentadas en un cultivo de <i>C. chamissoi</i> de Mendieta. ....	38
<b>Tabla 11.</b> Análisis comparativo del número de carposporas asentadas entre las localidades de estudio.....	38
<b>Tabla 12.</b> Tasa de crecimiento de <i>C. chamissoi</i> en un cultivo a partir de carposporas. ....	42
<b>Tabla 13.</b> Supervivencia de plántulas de <i>C. chamissoi</i> de un cultivo a partir de carposporas de Ancón.....	47
<b>Tabla 14.</b> Supervivencia de plántulas de <i>C. chamissoi</i> de un cultivo a partir de carposporas de Paiján. ....	48
<b>Tabla 15.</b> Supervivencia de plántulas de <i>C. chamissoi</i> de un cultivo a partir de carposporas de Mendieta. ....	48
<b>Tabla 16.</b> Número final de plántulas sobrevivientes y supervivencia de <i>C. chamissoi</i> de las tres poblaciones de estudio .....	49
<b>Tabla 17.</b> Número de discos de fijación secundaria (DFS) de <i>C. chamissoi</i> por valva presentes en Ancón.....	50
<b>Tabla 18.</b> Número de discos de fijación secundaria (DFS) de <i>C. chamissoi</i> por valva presentes de Paiján.....	51
<b>Tabla 19.</b> Número de discos de fijación secundaria (DFS) de <i>C. chamissoi</i> por valva presentes de Mendieta. ....	52

**Tabla 20.** Análisis comparativo del número de discos de fijación secundaria (DFS) y supervivencia entre las tres poblaciones de estudio ..... 52

**Tabla 21.** Análisis comparativo del tamaño final y tasa de crecimiento promedio de los discos de fijación secundaria (DFS) de las tres poblaciones de estudio..... 57

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclo de vida de <i>C. chamissoi</i> .....	5
<b>Figura 2.</b> Ubicación referencial de los puntos de colecta de <i>C. chamissoi</i> en el Perú. ....	18
<b>Figura 3.</b> Colecta de material biológico de una pradera natural.....	18
<b>Figura 4.</b> Morfología externa de dos individuos de <i>C. chamissoi</i> mostrando los puntos de medición. ....	19
<b>Figura 5.</b> Nivel de cortes en la rama principal de <i>C. chamissoi</i> para realizar los conteos (número de carposporas por gramo).....	20
<b>Figura 6.</b> Distribución de cistocarpos en las frondas de <i>C. chamissoi</i> .. ....	21
<b>Figura 7.</b> Cortes de cistocarpos de <i>C. chamissoi</i> para liberar las carposporas. ....	21
<b>Figura 8.</b> Etapas para inducir a la esporulación de especímenes de <i>C. chamissoi</i> .. ....	22
<b>Figura 9.</b> Sistema de cultivo a partir de carposporas.....	23
<b>Figura 10.</b> Porciones de cuerda mostrando carposporas asentadas .....	24
<b>Figura 11.</b> Sistemas de cultivo de <i>C. chamissoi</i> .....	26
<b>Figura 12.</b> Sistema de cultivo vegetativo para la formación de discos de fijación secundaria (DFS).....	27
<b>Figura 13.</b> Evaluación de crecimiento de los DFS con equipo óptico. ....	28
<b>Figura 14.</b> Especímenes cistocárpicos de <i>C. chamissoi</i> de Ancón.....	30
<b>Figura 15.</b> Especímenes cistocárpicos de <i>C. chamissoi</i> de Paiján.....	32
<b>Figura 16.</b> Distribución de cistocarpos en el talo de <i>C. chamissoi</i> de Paiján. ....	32
<b>Figura 17.</b> Especímenes vegetativos de <i>C. chamissoi</i> de Paiján. ....	33
<b>Figura 18.</b> Especímenes cistocárpicos de <i>C. chamissoi</i> de Mendieta.....	33
<b>Figura 19.</b> Distribución de cistocarpos en el talo de <i>C. chamissoi</i> de Mendieta.....	34
<b>Figura 20.</b> Especímenes vegetativos de <i>C. chamissoi</i> de Mendieta. ....	34
<b>Figura 21.</b> Crecimiento de plántulas de <i>C. chamissoi</i> de Ancón a partir carposporas. ....	40
<b>Figura 22.</b> Desarrollo de <i>C. chamissoi</i> de Ancón a partir de carposporas sobre cuerdas de polipropileno.....	41
<b>Figura 23.</b> Talla promedio de plántulas de <i>C. chamissoi</i> de Ancón a lo largo del cultivo a partir de carposporas.....	41



<b>Figura 24.</b> Crecimiento de <i>C. chamissoi</i> en una matriz gelatinosa sobre cuerdas de polipropileno.....	42
<b>Figura 25.</b> Crecimiento de plántulas <i>C. chamissoi</i> de Paiján a partir carposporas.....	43
<b>Figura 26.</b> Desarrollo de <i>C. chamissoi</i> de Paiján a partir de carposporas sobre cuerdas de polipropileno.....	44
<b>Figura 27.</b> Talla promedio de plántulas de <i>C. chamissoi</i> de Paiján a lo largo del cultivo a partir de carposporas.....	44
<b>Figura 28.</b> Crecimiento de plántulas <i>C. chamissoi</i> de Mendieta a partir carposporas.....	45
<b>Figura 29.</b> Desarrollo de <i>C. chamissoi</i> de Mendieta a partir de carposporas sobre cuerdas de polipropileno.....	46
<b>Figura 30.</b> Talla promedio de plántulas de <i>C. chamissoi</i> de Mendieta a lo largo del cultivo a partir de carposporas.....	46
<b>Figura 31.</b> Crecimiento promedio de <i>C. chamissoi</i> de las tres localidades a lo largo del cultivo .....	47
<b>Figura 32.</b> Discos de fijación secundaria de <i>C. chamissoi</i> de Mendieta a los 29 días de cultivo .....	49
<b>Figura 33.</b> Necrosamiento y despigmentación de <i>C. chamissoi</i> en un cultivo vegetativo a los cuatro días.....	50
<b>Figura 34.</b> Crecimiento promedio de discos de fijación secundaria (DFS) de <i>C. chamissoi</i> a lo largo de un cultivo vegetativo. ....	53
<b>Figura 35.</b> Tasa de crecimiento de los discos de fijación secundaria (DFS) de Ancón en un cultivo vegetativo .....	53
<b>Figura 36.</b> Desarrollo de discos de fijación secundaria (DFS) de <i>C. chamissoi</i> de Ancón en un cultivo vegetativo.....	54
<b>Figura 37.</b> Desarrollo de discos de fijación secundaria (DFS) de <i>C. chamissoi</i> de Paiján en un cultivo vegetativo. ....	55
<b>Figura 38.</b> Tasa de crecimiento de los discos de fijación secundaria (DFS) de Paiján en un cultivo vegetativo. ....	55
<b>Figura 39.</b> Desarrollo de discos de fijación secundaria (DFS) de <i>C. chamissoi</i> de Mendieta en un cultivo vegetativo.....	56
<b>Figura 40.</b> Tasa de crecimiento de los discos de fijación secundaria (DFS) de Mendieta en un cultivo vegetativo. ....	56

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Información morfológica de especímenes de Ancón.....	78
<b>Anexo 2.</b> Información morfológica de especímenes de Paiján .....	78
<b>Anexo 3.</b> Información morfológica de especímenes de Mendieta .....	79
<b>Anexo 4.</b> Potencial reproductivo (PR) de Ancón .....	79
<b>Anexo 5.</b> Potencial reproductivo (PR) de Paiján.....	80
<b>Anexo 6.</b> Potencial reproductivo (PR) de Mendieta.....	80
<b>Anexo 7.</b> Tallas de las plántulas de <i>C. chamissoi</i> de Ancón a lo largo del cultivo a partir de carposporas. ....	81
<b>Anexo 8.</b> Tallas de las plántulas de <i>C. chamissoi</i> de Paiján a lo largo del cultivo a partir de carposporas. ....	81
<b>Anexo 9.</b> Tallas de las plántulas de <i>C. chamissoi</i> de Mendieta a lo largo del cultivo a partir de carposporas. ....	81
<b>Anexo 10.</b> Crecimiento de DFS de <i>C. chamissoi</i> proveniente de Ancón en un cultivo vegetativo. ....	81
<b>Anexo 11.</b> Crecimiento de DFS de <i>C. chamissoi</i> proveniente de Paiján en un cultivo vegetativo. ....	82
<b>Anexo 12.</b> Crecimiento de DFS de <i>C. chamissoi</i> proveniente de Mendieta en un cultivo vegetativo. ....	82
<b>Anexo 13.</b> Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “talla”.....	83
<b>Anexo 14.</b> Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “grosor”. ....	83
<b>Anexo 15.</b> Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “peso”. ....	83
<b>Anexo 16.</b> Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “Número de cistocarpos por gramo”.....	84
<b>Anexo 17.</b> Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “Número de cistocarpos totales”.....	84
<b>Anexo 18.</b> Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “Número de esporas por cistocarpo”.....	84

<b>Anexo 19.</b> Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “Potencial reproductivo” .....	85
<b>Anexo 20.</b> Análisis de Varianza (ANOVA) y Tukey para la variable “Talla” .....	85
<b>Anexo 21.</b> Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Grosor” .....	86
<b>Anexo 22.</b> Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Peso” .....	87
<b>Anexo 23.</b> Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Número de cistocarpos por gramo” .....	88
<b>Anexo 24.</b> Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Número de cistocarpos totales” .....	89
<b>Anexo 25.</b> Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “Número de carposporas por cistocarpos” ..	90
<b>Anexo 26.</b> Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “Número de carposporas por cistocarpos” ..	90
<b>Anexo 27.</b> Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “Peso del alga fértil” .....	91
<b>Anexo 28.</b> Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Densidad relativa de esporas” .....	91
<b>Anexo 29.</b> Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Densidad de carposporas” .....	92
<b>Anexo 30.</b> Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “Potencial reproductivo” .....	93
<b>Anexo 31.</b> Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Tasa de crecimiento” en el cultivo a partir de carposporas. ....	93
<b>Anexo 32.</b> Prueba de Kruskal-Wallis para la variable número de talos <i>C. chamissoi</i> al final del cultivo a partir de carposporas .....	94
<b>Anexo 33.</b> Prueba de Kruskal-Wallis para la variable Supervivencia de <i>C. chamissoi</i> al final del cultivo a partir de carposporas.....	95
<b>Anexo 34.</b> Prueba de Anderson Darling y Kruskal-Wallis para la variable número de DFS de <i>C. chamissoi</i> al final del cultivo vegetativo.....	95
<b>Anexo 35.</b> Prueba de Anderson-Darling y ANOVA para la variable Supervivencia de los DFS de <i>C. chamissoi</i> en un cultivo vegetativo.....	96
<b>Anexo 36.</b> Prueba de Anderson-Darling y un análisis de varianza (ANOVA) para la variable “tasa de crecimiento” de los DFS de <i>C. chamissoi</i> en un cultivo vegetativo.....	97
<b>Anexo 37.</b> Prueba de Anderson-Darling y un análisis de varianza (ANOVA) para la variable “talla” de los DFS de <i>C. chamissoi</i> en un cultivo vegetativo. ....	98

<b>Anexo 38.</b> Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “Número de carposporas asentadas/mm <sup>2</sup> ” .....	98
<b>Anexo 39.</b> Prueba de Mann-Whitney para la variable “Número de carposporas asentadas/mm <sup>2</sup> ” entre las localidades de estudio.....	99
<b>Anexo 40.</b> Formación paulatina de biofilm a lo largo del cultivo a partir de carposporas de Mendieta .....	99
<b>Anexo 41.</b> Formación paulatina de biofilm a lo largo de un cultivo a partir de carposporas de Ancón.....	100
<b>Anexo 42.</b> Formación paulatina de biofilm a lo largo de un cultivo a partir de carposporas de Paiján .....	100

## RESUMEN

Se ha realizado el análisis de viabilidad reproductiva para el cultivo de *Chondracanthus chamissoi* de tres poblaciones del litoral peruano: Paiján (7°46' S; 79°25.4' O), Ancón (11°46' S; 77°11.3' O) y Mendieta (14°3.5' S; 76°15.72' O) bajo dos procedimientos de cultivo: a partir de carposporas y por propagación vegetativa a partir de formación de discos de fijación secundaria (DFS). Los individuos fueron colectados de poblaciones naturales y separados según su estadio de vida en cistocárpicas y vegetativas (sin estructuras reproductivas evidentes). Con los individuos cistocárpicos se prepararon “caldos” de carposporas luego fueron inoculados en sistemas de cultivo experimentales (bidones de 4L con sustratos artificiales de cuerdas de polipropileno) obteniéndose valores de asentamiento promedio de  $750 \pm 100$  carposporas/cm<sup>2</sup> para Ancón,  $450 \pm 50$  carposporas/cm<sup>2</sup> para Paiján y  $600 \pm 100$  carposporas/cm<sup>2</sup> para Mendieta. Después de 120 días de cultivo el número de plántulas sobrevivientes fue de  $31 \pm 17$  talos/cm<sup>2</sup> para Ancón,  $18 \pm 4$  talos/cm<sup>2</sup> para Paiján y  $49$  talos/cm<sup>2</sup> para Mendieta. Por otro lado, los individuos vegetativos fueron fijados sobre valvas de concha de abanico mediante ligas y puestos en los sistemas de cultivo. Después de 20 días se retiró el material vegetal y se evidenció formación de DFS en todas las poblaciones. Posteriormente después de 120 días el número de DFS al final del experimento fue  $5.8 \pm 1.9$  DFS/valva para Ancón,  $4.8 \pm 2.2$  DFS/valva para Paiján y  $9.1 \pm 7.8$  DFS/valva para Mendieta. Los resultados experimentales han demostrado la viabilidad de las tres poblaciones para desarrollar cultivos vegetativos y a partir de carposporas. La población de Mendieta a la luz de los resultados fue la más adecuada para implementar tanto un cultivo vegetativo como a partir de carposporas. El cultivo a partir de carposporas resultó el más beneficioso dado su elevado potencial reproductivo, sin embargo ambas estrategias pueden ser ampliamente utilizadas.

**Palabras clave:** *Chondracanthus chamissoi*, yuyo, esporulación, propagación vegetativa, discos de fijación secundaria.

## ABSTRACT

The analysis of reproductive viability for the cultivation of *Chondracanthus chamissoi* has been performed of three populations of the Peruvian coast: Paiján (7 ° 46 'S, 79 ° 25.4' W), Ancón (11 ° 46 S, 77 ° 11.3 'W) and Mendieta (14 ° 3.5 'S; 76 ° 15.72' W) under two cultivation methods: via carpospores and by vegetative propagation based on the formation of secondary attachment discs (SAD). Specimens were collected from the wild population and separated according to their life stage in cystocarpic and vegetative (no obvious reproductive structures). "Broths" of carpospores from cystocarpic specimens were prepared and then inoculated in culture experimental systems (bottle of 4L with artificial substrates of polypropylene ropes) obtaining values of average settlement of  $750 \pm 100$  carpospores/cm<sup>2</sup> in Ancón,  $450 \pm 50$  carpospores/cm<sup>2</sup> in Paiján and  $600 \pm 100$  carpospores/cm<sup>2</sup> in Mendieta. After 120 days of culture, the number of surviving seedlings was  $31 \pm 17$  thalli/cm<sup>2</sup> in Ancón,  $18 \pm 4$  thalli/cm<sup>2</sup> in Paiján and  $49$  thalli/cm<sup>2</sup> in Mendieta. On the other hand, the vegetative specimens were fixed on scallop shells with rubber bands and placed in culture systems. After 20 days, fronds were removed and SAD formation was evident in all populations. After 120 days the number of SAD at the end of the experiment was  $5.8 \pm 1.9$  SAD/shell to Ancón,  $4.8 \pm 2.2$  SAD/shell to 9.1  $\pm$  7.8 Paiján and SAD/shell to Mendieta. Experimental results have demonstrated the feasibility of the three populations to develop vegetative and via carpospores culture. The population of Mendieta in the light of the results was the most appropriate to implement vegetative and via carpospores culture. Cultivation based on carpospores proved the most beneficial given their high reproductive potential, though both strategies can be widely used.

**Keywords:** *Chondracanthus chamissoi*, yuyo, sporulation, vegetative propagation, secondary attachment discs

## I. INTRODUCCIÓN

*Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing comúnmente conocido como “yuyo”, “mococho” o “chicorea de mar”, es un alga roja que se distribuye principalmente en la costa del Pacífico Sudamericano desde Paita (5°S, Perú) hasta Ancud (42°S, Chile) (Dawson *et al.*, 1964; Ramírez & Santelices, 1991) que ha sido comúnmente objeto de extracción por los pescadores locales, debido a su importancia comercial como materia prima para la extracción de carragenano y para consumo humano directo (Acleto, 1971; Bulboa *et al.*, 2013). En el Perú es considerada una de las algas rojas más abundantes de la costa y ha sido utilizada como parte de la dieta alimenticia desde épocas pre incaicas por los pobladores de las zonas costeras y andinas (Acleto, 1971;ACLETO & ZÚÑIGA, 1998; Riofrío, 2003; Carbajal *et al.*, 2005).

Debido a su importancia e interés creciente, diversas investigaciones relacionadas al conocimiento del cultivo de *C. chamissoi* han sido desarrolladas principalmente en Chile (Alveal, 1999; Bulboa & Macchiavello, 2001; Macaya, 2001; Macchiavello *et al.*, 2003; Bulboa *et al.*, 2005; Bulboa & Macchiavello, 2006; Bulboa, 2006; Bulboa *et al.*, 2010). Sin embargo aún no se ha logrado desarrollar una actividad productiva bien establecida que pueda abastecer la creciente demanda debido al desconocimiento de procesos de cultivo más viables y sostenibles a largo plazo, al poco conocimiento de la viabilidad para el cultivo de distintas poblaciones de *C. chamissoi* y a la poca información de áreas adecuadas para los cultivos en el mar.

Uno de los mayores inconvenientes que tiene el cultivo de *C. chamissoi* en nuestro medio es que depende en gran medida de la extracción de especímenes fértiles (principalmente carposporofíticos) de poblaciones naturales: Se necesita aproximadamente 12 kg de alga fresca para sembrar 700 metros lineales de cuerda (observaciones personales). Esta dependencia puede generar inconvenientes al proceso productivo debido a la baja disponibilidad de individuos fértiles, en ciertas etapas del año, así como su escasez en

ciertas áreas geográficas, además de los costos operativos que implican su obtención o compra.

De otro lado, las algas marinas han desarrollado adaptaciones específicas a las condiciones de su entorno donde la luz y la temperatura son los factores abióticos principales responsables de su distribución geográfica (Bulboa *et al.*, 2008). Esta diferenciación ecotípica se ha descrito como el principal mecanismo responsable de la capacidad de una sola especie de existir en un amplio rango geográfico (Bulboa *et al.*, 2008). Buschmann *et al.* (1992) encontraron diferencias en el cultivo dos poblaciones del alga roja *Gracilaria chilensis* distribuidas en Chile. Así mismo, Bulboa *et al.* (2010) demostraron la existencia de diferencias en los procesos de esporulación entre especímenes de distintas latitudes de *C. chamissoi*. Estas variaciones intraespecíficas en las características morfológicas y funcionales de algas bentónicas pueden ser un reflejo de las diferencias en el hábitat en las cuales se desarrollan (Buschmann *et al.*, 1992). Sin embargo, desde un punto de vista productivo, podrían determinar el éxito de un nuevo proyecto de cultivo (Hanisak *et al.*, 1990; Buschmann *et al.*, 1992). Estudios comparativos de la viabilidad para el cultivo entre distintas poblaciones de *C. chamissoi* en el Perú no han sido realizados.

Bajo este contexto, es necesario caracterizar distintas poblaciones de *C. chamissoi* en cultivo y determinar procesos más viables para obtener patrones de crecimiento y desarrollo que permitan sustentar cualquier actividad de cultivo. El presente trabajo de investigación realizó un análisis comparativo de la viabilidad para la acuicultura de *C. chamissoi*, proveniente de tres poblaciones diferentes del litoral peruano, sometidas a dos procedimientos de cultivo: cultivo a partir de carposporas y cultivo vegetativo por formación de discos de fijación secundaria (DFS) ambas en condiciones semi-controladas. El objetivo fue determinar la viabilidad para el cultivo de estas tres poblaciones de *C. chamissoi* y detallar las características más ventajosas para el cultivo así como también el sistema de cultivo más beneficioso en función a la tasa de crecimiento y la supervivencia. De esta manera se pretende generar información que mejore los procesos de selección, manejo y previsión de la actividad acuícola de esta especie.



## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1. Caracterización de la especie

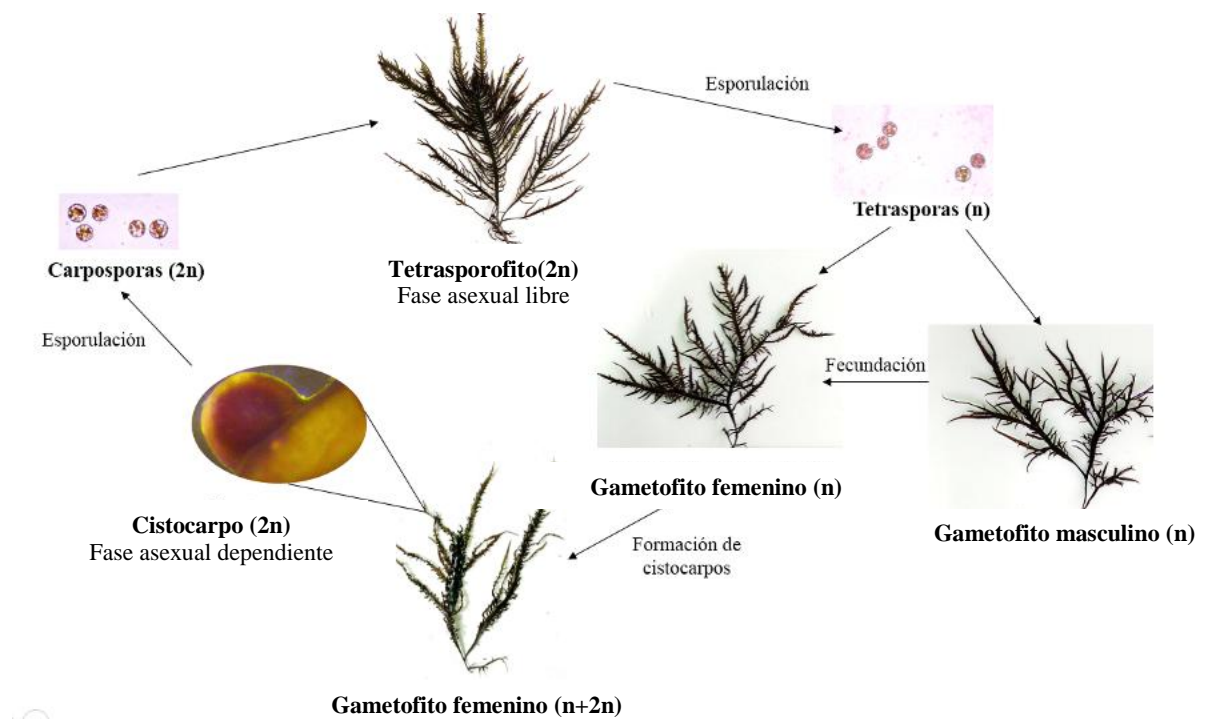
*Chondracanthus chamissoi* conocida comúnmente como "yuyo" o "mococho" en Perú y como "chicorea de mar" en Chile, es un alga roja de la familia Gigartinaceae, que se distribuye en la costa del Pacífico sudamericano desde Paita, Perú (5° 04' S, 81° 05' W) hasta Chiloé, Chile (42° 40' S, 73° 55' W) (Dawson *et al.*, 1964; Ramírez & Santelices, 1991). Sin embargo, recientes estudios realizados por Jang *et al.* (2015) señalan la presencia de esta especie en Corea, Japón y Francia. Es considerada una de las algas rojas más abundantes de la costa peruana (Acleto, 1986; Riofrío, 2003). Habita en las zonas rocosas del intermareal y submareal creciendo tanto en regiones expuestas al oleaje como protegidas hasta los 15 metros de profundidad (Bulboa & Macchiavello, 2006, Calderón *et al.*, 2010).

El talo de *C. chamissoi* es membranoso y cartilaginoso (Calderón *et al.*, 2010). El tamaño varía desde 6 - 50 cm. de alto (Dawson *et al.*, 1964) de ancho variable, pudiendo sobrepasar el centímetro de grosor (observaciones personales). Esta especie es morfológicamente muy variable (Acleto, 1986) con una gran variabilidad de colores (verde, verde oliva, verde oscuro, violáceo iridiscente, rojo, púrpuro, marrón rojizo e incluso negro) y presenta además variaciones en la amplitud y grado de ramificación (Pariona, 2004; Calderón *et al.*, 2010). Varios ejes erectos se originan desde un disco de fijación que puede llegar a medir 3 mm (Calderón *et al.*, 2010). Cerca de la base, los talos se dividen una o dos veces y forman ejes primarios que se extienden a lo largo de la lámina, especialmente en las formas más anchas. La ramificación es principalmente dística y pinnada, ocasionalmente subdicotómica, con ramas laterales que se originan sucesivamente y son de diferente tamaño y longitud dependiendo de la edad (Dawson *et al.*, 1964;ACLETO, 1986; Calderón *et al.*, 2010). La variabilidad de formas se debe

principalmente a la estación, hábitat y movimiento del agua, mientras que la variación en la coloración está relacionada con la intensidad luminosa (Pariona, 2004).

La especie *C. chamissoi* tiene un ciclo vital trifásico e isomórfico con alternancia de esporofitos y gametofitos erectos (Calderón *et al.*, 2010, Ávila *et al.*, 2011) (Figura 1). La fase sexual o gametofítica haploide, está representada por los gametofitos masculinos y femeninos (gametofitos dioicos). Los gametofitos masculinos producen los espermacios (gameto masculino) que son arrastrados por la corriente hasta el carpogonio (gameto femenino) (Macaya, 2001). Después de la fecundación, los cistocarpos que se desarrollan sobre el gametofito femenino, que representan la fase cistocárpica o carposporofito diploide, forman carposporas (diploides) que germinan dando lugar a la fase asexual libre o tetrasporofito diploide, de morfología similar a los gametofitos (Acleto, 1986). Los individuos tetrasporofíticos poseen pequeños soros tetrasporangiales donde se producen esporas haploides denominadas tetrasporas. Luego de ser liberadas, las tetrasporas germinan originando gametofitos haploides femeninos o masculinos. Los gametofitos femeninos (cistocárpicos), gametofitos masculinos y tetrasporofitos son morfológicamente semejantes, sin embargo, al mismo tiempo son fáciles de ser diferenciados, aun mostrando tamaño y coloración diferente (Bulboa & Macchiavello, 2006).

En la fase carposporofítica, los cistocarpos son esféricos, prominentes, de hasta 1mm de diámetro (observaciones personales), agregados en los márgenes de las frondas, ramificaciones, en la base de las pínulas o sobre toda la superficie del talo (Acleto, 1986; observaciones personales). Las frondas masculinas se diferencian morfológicamente al presentar los extremos del eje principal y de las ramas notoriamente puntiagudas y libres de ramificación hasta cierta distancia (Acleto, 1986). En el caso del tetrasporofito, los soros tetraesporangiales son visibles como almohadillas de color marrón rojizo, localizados en los bordes superiores al eje principal y de las ramas, o en la base de las ramitas cortas. En algunos casos se ha observado que los ejemplares tetraspóricos muestran las ramas hinchadas irregularmente, semejando a las plantas cistocárpicas; en estos los soros tetrasporangiales se reconocen con cierta dificultad y con mayor claridad en los bordes de las ramas cortas (Dawson *et al.*, 1964;ACLEto, 1986). Generalmente los individuos tetraspóricos tienen una disposición opuesta de las pínulas muy característica y particular.



**Figura 1.** Ciclo de vida de *C. chamissoi*. Esta especie tiene un ciclo de vida Haplo-diploide con alternancia de generaciones isomórficas.

*C. chamissoi* tiene estrategias reproductivas que permiten su mantenimiento en praderas naturales tales como la producción de gametos, la producción de carposporas y tetrasporas, la fragmentación del talo (Bulboa *et al.*, 2013) y la formación de un sistema basal crustoso permanente sobre el sustrato que tiene la capacidad de regenerar frondas (Alveal, 2001). Alveal (2001) hace hincapié en el elevado potencial reproductivo de *C. chamissoi* determinando una cantidad de carposporas aproximada de 150 000 000 por individuo reproductivo, con un promedio de carposporas por cistocarpo de 35000 a 45000. Por otro lado, Macchiavello *et al.* (2003) determinaron que la fragmentación del talo en esta especie, así como su capacidad de re adhesión se produce a lo largo de todo el año, aunque con una frecuencia más alta en el período de máxima acumulación de biomasa. Además determinaron que las esporas tienen una marcada estacionalidad las cuales se producen principalmente en primavera y verano presentando una marcada sincronización entre la fertilidad y el período de mayor crecimiento vegetativo (Bulboa *et al.*, 2010).

Pacheco-Ruiz *et al.* (2005) basados en observaciones *in situ* al introducir sustratos en un pradera de *Chondracanthus squarulosus*, determinaron que los discos de fijación secundaria (DFS) y las costras formadas cuando las ramas laterales entran en contacto con el sustrato persisten bajo condiciones de estrés y producen nuevos brotes los cuales pueden actuar como estructuras de propagación para colonizar nuevas áreas. Posteriormente Fonck *et al.* (2008) y Sáez *et al.* (2008) en sus diversas investigaciones determinaron que los DFS también juegan un papel importante como una estrategia de propagación vegetativa de *C. chamissoi*, dado que tienen la capacidad de persistir una vez que se hayan separado del talo original y pueden generar nuevos brotes que se pueden desarrollar de forma independiente de la rama madre. Todas estas estrategias reproductivas han sido evaluadas por diversos investigadores con el objetivo de desarrollar técnicas de cultivo para *C. chamissoi* (Alveal, 1999; Macaya, 2001; Bulboa *et al.*, 2005; Bulboa, 2006; Bulboa y Macchiavello, 2006; Bulboa *et al.*, 2013).

## **2.2. Factores que afectan el cultivo de *C. chamissoi***

Un aspecto importante para el desarrollo de todo cultivo es determinar los factores que lo afectan estimulando o inhibiendo el proceso de crecimiento y desarrollo de las algas marinas. Estos factores han sido determinados por diversos estudios, siendo los principales la temperatura, fotoperiodo, irradiación y la disponibilidad de nutrientes (Lobban & Harrison, 1994; Oliveira *et al.*, 1995; Edding, 1995; Alveal *et al.*, 1995; Bulboa & Macchiavello, 2001; Riofrío, 2003; Bulboa, 2006, Barsanti & Gualtieri, 2014). A continuación se hará una revisión mucho más detallada de los factores que afectan un cultivo.

La temperatura afecta principalmente las tasas de reacciones químicas y el metabolismo correlacionándose directamente con la fotosíntesis, la respiración, la inducción a la esporulación, germinación, el crecimiento y desarrollo de las algas (Lobban & Harrison, 1994). Cada organismo tiene su temperatura óptima y un rango de tolerancia en la cual se desarrollan todos sus procesos metabólicos eficientemente. Estas temperaturas óptimas varían entre especies, pudiendo también ser variables entre linajes y diferentes fases del ciclo de vida de la misma alga (Lobban & Harrison, 1994; Agrawal, 2001). Diversos investigadores han detallado la importancia de la temperatura en el cultivo de algas

(Salinas & Valdés, 1993; Oliveira *et al.*, 1995; Edding, 1995; Garza-Sánchez *et al.*, 2000; Macaya, 2001; Agrawal, 2001; Bulboa & Macchiavello, 2001; Buschmann *et al.*, 2004; Bulboa, 2006; Redmond *et al.*, 2014). Por lo tanto, es importante en un cultivo tratar de mantener las condiciones de temperatura en condiciones óptimas para el crecimiento de la especie; esto puede ser por medio de sistemas de refrigeración, calentamiento y circulación de aire según sean las particularidades del alga cultivada (Oliveira *et al.*, 1995)

Diversos autores han determinado el efecto del fotoperiodo y la irradiación en el crecimiento de algas de un cultivo (Salinas & Valdés, 1993; Garza-Sánchez *et al.*, 2000; Bulboa & Macchiavello, 2001; Buschmann *et al.*, 2004; Bulboa, 2006; Ávila *et al.*, 2011; Redmond *et al.*, 2014). Se sabe que en los organismos fotoautótrofos, como *C. chamosoi*, la ganancia neta de biomasa está esencialmente vinculada con el proceso de fotosíntesis (Israel, 1995), ya que incorporarán material inorgánico en biomasa orgánica utilizando la energía del sol (Redmond *et al.*, 2014). Esta energía del sol está caracterizada por la cantidad (fotoperiodo) y calidad (intensidad) de la luz. El fotoperiodo es la cantidad de horas luz y oscuridad del medio natural en la que crece y se desarrolla el alga. Así mismo, la intensidad lumínica, flujo fotónico o irradiación es la medida de la cantidad de energía que cae sobre una superficie plana (Lobban & Harrison, 1994) y está implicada en la alteración de la tasa de división celular interfiriendo en el crecimiento (Bulboa, 2006). En un cultivo, la luz puede ser obtenida por medio de lámparas fluorescentes o de luz fría o sencillamente la luz de día y sus magnitudes dependerán de los objetivos del cultivo y las exigencias del organismo cultivado; así por ejemplo, se puede trabajar con el fotoperiodo 16:8 o 14:10 (L/O) brindando condiciones de días largos (verano) para fomentar el crecimiento y desarrollo (Oliveira *et al.*, 1995). Por otro lado, en un cultivo generalmente la intensidad luminosa es muy inferior a la encontrada en la naturaleza (generalmente se encuentra entre el rango de 40 – 70  $\mu\text{mol}$  fotones) y su efecto dependerá de la concentración de nutrientes del medio, los intervalos de cambio del medio, la temperatura y la densidad de algas por tanque o frasco (Oliveira *et al.*, 1995).

Los nutrientes, los cuales son el conjunto de elementos químicos inorgánicos (incluido las vitaminas), cumplen roles esenciales en el metabolismo de las algas. Tenemos los macronutrientes (C, N y P) y micronutrientes o elementos traza (Fe, Cu, Mn, Zn, etc.) los cuales son incorporados en los tejidos, estructuras celulares, enzimas, entre otros. Estos

elementos generalmente se encuentran disueltos en el medio marino en condiciones naturales sin embargo su disponibilidad puede variar según diversos factores (Lobban & Harrison, 1994). La adición de nutrientes al medio de cultivo de algas en sistemas cerrados es indispensable ya que el nitrógeno y el potasio pueden estar poco disponibles para las algas, llegando a ser limitantes (Edding, 1995). Los niveles de carbono también son importantes en un cultivo dado su importancia en el proceso fotosintético. Debido a la alta tasa fotosintética que se produce en un medio de cultivo debido a su alta exposición a condiciones de luz, se reduce el carbono inorgánico disuelto pudiendo llegar a limitar el proceso fotosintético y por ende el crecimiento. Agrawal (2001) indica que la falta de nitrógeno, fósforo o ambos disminuye la germinación de esporas dado estos elementos son necesarios para la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas durante la germinación. Así mismo, postula que la germinación no solo se puede reducir por la falta de nitrógeno, fósforo o magnesio (y de calcio) sino también cuando su concentración excede ciertos niveles tolerables. Por ende, diversos medios de cultivo preparados a partir de sales inorgánicas de grado analítico han sido formulados, y utilizados para el cultivo de algas a nivel de laboratorio. Sin embargo, el uso de estos medios de cultivo es prohibitivo para el cultivo comercial debido a su alto costo y los grandes volúmenes necesitados (Pacheco – Ruíz *et al.*, 2004). Diversos trabajos han sugerido el uso de fertilizantes agrícolas como alternativa de bajo costo al uso de sales inorgánicas de grado analítico para el cultivo masivo (Edding, 1995; Pacheco – Ruíz *et al.*, 2004; Bulboa, 2006; Bulboa *et al.*, 2013). Así mismo, la proporción N: P es importante para establecer las cantidades de nutrientes que se debe aplicar. Diversos autores han utilizado la relación N:P de 10:1 para sus cultivos obteniendo buenos resultados (Edding, 1995; Pacheco – Ruíz *et al.*, 2004; Bulboa *et al.*, 2013).

Finalmente, otras variables que afectan el crecimiento y desarrollo de las algas en un cultivo es la turbulencia ocasionada por el movimiento del agua, el pH y la salinidad. El movimiento del agua es importante pues mejora la absorción de nutrientes (mejora su difusión), el intercambio de gases en las algas (CO<sub>2</sub> del medio aéreo) y asegura una mejor distribución de la luz (Oliveira *et al.*, 1995; Barsanti & Gualtieri, 2014) influyendo también en el asentamiento, fijación, supervivencia y germinación de las esporas. (Agrawal, 2001). La importancia del pH radica básicamente en el equilibrio químico del agua de mar. El ácido carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) y sus iones; bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), carbonato (CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>) así como el

CO<sub>2</sub> potencialmente constituyen la principal fuente de carbono inorgánico para el proceso de fotosíntesis. La concentración relativa de los iones del ácido carbónico en equilibrio químico, está gobernada en el agua de mar principalmente por el pH, la temperatura y la fuerza iónica (Israel, 1995). La salinidad es un componente importante de la fisiología de las algas, son la concentración total de sales disueltas en el agua de mar además de iones específicos como el calcio y el bicarbonato. La salinidad tiene un efecto muy grande en la presión osmótica de las células, el movimiento activo de iones en la membrana, etc. (Lobban & Harrison, 1994). En un cultivo cerrado es necesario monitorear los niveles de salinidad, dado que estos tienden a elevarse dada la evaporación del agua. Lógicamente esto dependerá de la superficie del estanque, de la temperatura y la humedad relativa (Edding, 1995). Se detallará a continuación investigaciones llevadas a cabo con *C. chamissoi* que determinan cómo le afectan las variables fisicoquímicas:

Vásquez & Vega (2001) determinaron que el aumento de temperatura, luz y fotoperiodo en verano favorece la actividad reproductiva de *C. chamissoi* de la Bahía de la Herradura al norte de Chile. Complementando este trabajo tenemos la investigación realizada por Riofrío (2003) quien determinó que cada fase del ciclo de vida de *C. chamissoi* de Ancón (Lima – Perú) presenta temperaturas óptimas características, es decir, existe un comportamiento reproductivo estacional diferencial donde las temperaturas altas contribuyen a la abundancia de gametofitos y las bajas favorecen la dominancia de esporofitos.

Macaya (2001) evaluó diferentes factores que inducen la liberación de carposporas (lavado con agua de caño, salinidad, desecación parcial, salinidad y temperatura) además de la viabilidad de su asentamiento y germinación en diferentes sustratos. Se observó liberación de carposporas en todos los tratamientos, sin embargo, el tratamiento de temperatura (temperatura y oscuridad) fue el que presentó mayor liberación de carposporas (408 – 444 carposporas/cm<sup>2</sup>). También se observó el mayor porcentaje de germinación (48%) en el tratamiento de temperatura (mantenidos a 15°C, fotoperiodo 16:8 y flujo fotónico 60  $\mu\text{moles}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Estos resultados según lo cita literalmente el autor:

*“Que se produzca liberaciones de esporas bajo 5°C puede confirmar el carácter euritérmico de la especie mencionado por Bulboa (1998), quien trabajando con un rango*

de temperatura entre 10 y 25°C constató crecimiento bajo todas las condiciones experimentales probadas, atribuyendo esta característica como el factor que permite la amplia distribución latitudinal de la especie (Macaya, 2001. Pág. 27)”

Precisamente en el trabajo de Bulboa & Macchiavello (2001) se evaluó el crecimiento de gametofitos y esporofitos de *C. chamissoi* bajo 4 condiciones de temperatura (10, 15, 20 y 25°C) y 3 condiciones de flujo fotónico (20, 70 y 120  $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) en un cultivo *in vitro* determinándose que ambas fases crecieron en todas las combinaciones de luz y temperatura. Sin embargo, a 10°C ambas fases presentaron los valores más bajos de crecimiento en los tres niveles de flujo fotónico (Siendo el crecimiento más bajo de todo el experimento la combinación de 10°C y 120  $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). En líneas generales la tendencia en ambas fases fue incrementar el crecimiento con el incremento de la temperatura; obteniéndose una tasa de crecimiento de 6 – 7 %/día a 15°C, 7 – 13 %/día a 20°C y 8 – 16 %/día a 25°C. Siendo los máximos valores de crecimiento obtenidos a 20 - 25°C con 70  $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para los individuos gametofíticos y con 120  $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para los tetrasporofitos.

Bulboa (2006) evaluó el efecto de la temperatura, la densidad de flujo fotónico y fotoperiodo en el cultivo *in vitro* de gametofitos y esporofitos de *C. chamissoi* de 4 localidades de Chile. Se cultivaron las porciones apicales de gametofitos femeninos y tetraspóricos y se evaluó en un primer experimento el efecto de la temperatura y la densidad de flujo fotónico, para lo cual se cultivaron los talos en diferentes condiciones de temperatura (10, 15, 20 y 25 °C) y flujo fotónico (10, 60 y 110  $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). El segundo experimento consistió en evaluar el efecto del fotoperiodo, para lo cual se evaluaron 3 fotoperiodos diferentes: 10:14, 12:12, 14:10 (L:O) manteniendo la temperatura y el flujo fotónico constante (15°C y 60  $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). Los resultados demostraron que ambas fases de vida de las 4 localidades sobrevivieron y crecieron en todas las condiciones experimentales confirmado el carácter euritérmico de *C. chamissoi* connotado por Bulboa & Macchiavello (2001). De otro lado, determinó que la tasa de crecimiento para las dos fases de vida en todas las poblaciones estudiadas aumento con un incremento de la temperatura y la luz. Se obtuvo una tasa de crecimiento entre 0.1 %/día (10°C y 110  $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) y 7.5 %/día (25°C y 60  $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). Estos datos coinciden con lo planteado por Vásquez & Vega (2001) quienes determinaron que la máxima acumulación



de biomasa ocurre en verano y primavera (Mayores temperaturas, días más largos) disminuyendo en invierno (Menor temperatura, días cortos).

Ávila *et al* (2011) desarrolló el ciclo de vida de *C. chamissoi* en un cultivo *in vitro*. El crecimiento promedio diario que se obtuvo para los gametofitos fue de 6.5 - 9 %/día y para los esporofitos 9.9 – 27 %/día. Por otro lado, los talos crecieron significativamente mucho más a salinidades entre 25 – 33 ppm y una temperatura de 13 °C (el experimento solo comparó dos temperaturas: 10 y 13 °C) a diferencia de los talos que fueron cultivados a 15 ppm los cuales fueron pequeños y evidenciaron la presencia de pérdida de color y necrosamiento para ambas temperaturas (10 y 13 °C). De otro lado, en el fotoperiodo de 16:8 se evidenció el mayor crecimiento de los tetrasporofitos. Además se determinó que el crecimiento fue muy dependiente del pH y de la temperatura. Los talos crecieron más rápidamente y alcanzando tamaños más grandes en un pH de 6,5 y una temperatura de 13 °C; por otro lado, los talos cultivados a un pH de 10,2 fueron más pequeños, para ambas condiciones de temperatura (10 y 13 °C). Es importante mencionar que, el uso de los nutrientes con un pH básico (8.5 o 10.2), para ambas temperaturas a 10 °C y a 13 °C ocasionó que las puntas de las plántulas pierdan pigmentación y en algunos casos ocasionó necrosis en los talos.

### **2.3.Cultivo de *C. chamissoi* a partir de esporas**

Existen dos procesos de cultivo para *C. chamissoi*: por propagación vegetativa y a partir de esporas. El cultivo a partir de esporas o esporocultivo consiste en permitir que las esporas (tetrasporas o carposporas), análogas a las semillas usadas para el cultivo de plantas terrestres, sean inoculadas sobre sustratos artificiales (cuerdas, redes, etc.) para posteriormente ser trasladado a las áreas de cultivo en el mar para su crecimiento y su posterior cosecha (Macaya, 2001). Este sistema de cultivo tiene la ventaja de utilizar una baja cantidad de biomasa reproductiva para iniciar el cultivo (Macaya, 2001; Bulboa *et al.*, 2013) permitiendo un cultivo masivo a partir de cantidades pequeñas de material fértil, abriendo la posibilidad de seleccionar cepas para la producción de plantas de mejor calidad (Alveal *et al.*, 1995). Además, se puede controlar el crecimiento de plantas tetrasporofíticas, gametofíticas o una combinación de ambas, lo que permite cultivar determinada fase en función a los requerimientos del mercado (Macaya, 2001).

Adicionalmente, el cultivo a partir de esporas genera una importante variabilidad genética en los cultivos. Sin embargo, diversas experiencias observadas en el medio natural y en procesos de cultivo han determinado la existencia de una alta tasa de mortalidad en las primeras etapas de desarrollo (asentamiento y germinación) (Santelices, 1990; Glenn *et al.*, 1995; Ávila *et al.*, 1999; Maggs & Callow, 2003; Bulboa, 2006). Por otro lado, este sistema de cultivo necesita una mayor cantidad de tiempo (3 a 4 meses) de mantención en condiciones controladas antes de ser llevado al mar (Bulboa, 2006) pudiendo implicar además, la manipulación de equipos (microscopios, estereoscopios) para llevar a cabo ciertos procedimientos de monitoreo y observación de las etapas de cultivo (esporulación, asentamiento) lo que podría ser restrictivo para algunas personas.

El cultivo a partir de esporas se inicia con la obtención y mantención del material reproductivo de praderas naturales. Generalmente es más conveniente iniciar el cultivo con individuos cistocárpicos debido a que tienen los cistocarpos (estructuras reproductivas) a simple vista (Macaya, 2001), además permite obtener un cultivo uniforme dado que las carposporas al germinar producen solo individuos tetraspóricos. La colecta debe ser cuidadosa, seleccionando individuos completos, con buen aspecto, textura, poco o no epifitados, evitando individuos varados o flotantes, que hayan estado expuestos; ya que pueden encontrarse estresados y con una menor probabilidad de poder generar cultivos saludables (Oliveira, 1995). El material colectado es lavado y limpiado en campo y puesto en un contenedor térmico aislado con una condición de 80 – 90% de humedad evitando su exposición al sol. En estas condiciones el material puede ser trasladado al centro del cultivo sin afectar la viabilidad de las esporas (Alveal *et al.*, 1995). Posteriormente se debe inducir la esporulación del material fértil por medio de diversos tipos de estrés (temperatura, salinidad, etc.) (Alveal *et al.*, 1995; Macaya, 2001; Agrawal, 2001; Maggs & Callow, 2003; Bulboa, 2006). Alveal *et al.* (1995) recomiendan realizar este proceso entre las 12-24 horas de colectado el material para no disminuir su calidad reproductiva. Después de producirse la liberación de esporas, se debe iniciar la inoculación masiva de esporas en los sustratos los cuales pueden ser naturales (trozos de coral, valvas de moluscos, etc.) y/o artificiales (mallas de nylon, cuerdas de polipropileno, etc.). Las propiedades de la rugosidad y la energía superficial afectan en gran medida el éxito del asentamiento (Lobban & Harrison, 1994). En las esporas que no tienen movimiento (sin flagelo), las fuerzas viscosas (producidas por el mucilago) son los más importantes ya que

la capacidad de las células para adherirse a una superficie y depende de la energía de superficie, a veces llamado tensión superficial o humectabilidad (Lobban & Harrison, 1994). Maggs & Callow (2003) señalan que el asentamiento en sustratos rugosos proporcionan a las esporas una mayor área de superficie para la fijación y protección contra la desecación, la acción del oleaje y la depredación. Señalan además que las esporas se adhieren más fácilmente a superficies hidrofóbicas, probablemente debido a que permite más fácilmente la exclusión de las moléculas de agua desde la interfaz entre la esporas y el sustrato. Alveal (1995) señala que para un cultivo de *Gracilaria* es aconsejable inocular las cuerdas con una alta densidad de esporas (100-200 cm<sup>2</sup> aproximadamente) para asegurar altos niveles de sobrevivencia. Después de producido el asentamiento, se realiza la incubación de las plántulas en el *hatchery* hasta que desarrollen un tamaño de 2 – 3 mm (3 – 4 meses) y puedan luego ser sembrados en el mar. El sistema de siembra en el mar puede ser muy variable y dependerá de las condiciones del área.

Uno de los trabajos más interesantes y completos acerca del cultivo de *C. chamissoi* fue el realizado por Bulboa (2006) a partir de carposporas y tetrasporas desde condiciones controladas de laboratorio hasta su posterior siembra en el mar. Después de la inducción a la esporulación (se utilizó 40 gr. de material fértil para inocular 15 m) e inoculación en los sustratos (cuerdas de cultivo de 3mm) la etapa de laboratorio fue llevada a cabo en acuarios de cultivo de 7 litros con agua esterilizada enriquecida con medio Von Stosch diluido al 50%, temperatura de 15±1°C, 50 µmol fotones m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, fotoperiodo de 12:12 (L:O), 6mL de GeO<sub>2</sub> (3 µgL<sup>-1</sup>) para evitar el crecimiento de diatomeas y Penicilina potásica (0.2 mg mL<sup>-1</sup>) para evitar el crecimiento de cianobacterias. El medio fue renovado semanalmente y se mantuvo el cultivo en estas condiciones por 60 días. Cabe resaltar que las densidades iniciales de asentamiento fueron 196±24 talos/cm para los gametofitos y 68±12 talos/cm para los esporófitos. Como resultado de esta etapa se obtuvieron talos de 0.9 cm y una densidad final de 136±32 talos/cm para los gametofitos y 44±7 talos/cm para los esporófitos. Después de esta etapa las cuerdas con los talos fueron cortadas en trozos de 5cm y entrelazadas a 1 cuerda de polipropileno de 7 mm luego trasladadas a tanques de cultivo de 1000 L con flujo constante de agua de mar filtrada (1 µm). En esta etapa se utilizó fertilizante agrícola a una misma concentración que el medio Von Stosch. El cultivo fue llevado por 120 días en estas condiciones hasta obtener finalmente individuos gametofitos de 4±1 cm y esporofitos de 3±1 cm con densidades de 36±7 y 11±7 (talos/cm)

respectivamente. Finalmente las cuerdas fueron llevadas al mar y sembradas en un sistema “Long line” siendo mantenidas por 60 días obteniéndose al final del experimento tamaños de  $16.8\pm 4.6$  cm para los gametofitos,  $15\pm 2.83$  cm para los esporofitos y densidades finales de  $15\pm 7$  y  $6\pm 4$  (talos/cm) respectivamente. Los resultados de este trabajo demuestran la factibilidad del cultivo comercial a partir de esporas de *C. chamissoi*.

Alveal *et al.* (1999) reportaron el crecimiento de plántulas de *C. chamissoi* a partir de carposporas y tetrasporas en condiciones controladas de laboratorio utilizando como sustrato cuerdas de polipropileno. Obtuvieron a los 90 días como resultado del cultivo una longitud de 800  $\mu\text{m}$  para los esporofitos (originados de las carposporas) y 500  $\mu\text{m}$  para los gametofitos (originados de las tetrasporas). Otros experimentos en condiciones de laboratorio para probar la capacidad de adhesión al sustrato de juveniles no asentados (JNA) generados a partir de esporas de *C. chamissoi*, fueron realizados por Barrientos & Otaíza (2014). Sus resultados muestran que el crecimiento del JNA se vio afectado positivamente por la intensidad de la luz. Además, luego de 4 meses de edad los JNA lograron el asentamiento de estos individuos en un 60% al colocarse sustratos artificiales desarrollando discos de fijación secundaria (DFS). Adicionalmente determinaron que el calcio estimula el apego precoz del JNA, pero que la fase del ciclo de vida y el grado de desarrollo no tienen efectos significativos. Demostrando por lo tanto, que los JNA pueden ser mantenidos en el laboratorio reteniendo sus capacidades de fijación.

#### **2.4. Cultivo vegetativo de *C. chamissoi***

El cultivo vegetativo o cultivo por propagación vegetativa puede desarrollarse por medio de talos fragmentados (Bulboa *et al.*, 2005; Bulboa & Macchiavello, 2006) o por la formación de discos de fijación secundaria (DFS) (Sáez *et al.*, 2008; Bulboa *et al.*, 2013). Esta metodología de cultivo consiste en el aprovechamiento de la capacidad de propagación vegetativa que tiene *C. chamissoi* al propiciar el contacto del alga con el sustrato (mediante una liga se puede fijar el alga sobre una valva o se pueden entrelazar trozos de algas sobre las cuerdas de cultivo). De esta manera se generan en los puntos de contacto discos de fijación secundaria (DFS) los cuales tienen la capacidad de generar nuevos brotes independientes del alga “madre”. Posteriormente estos sustratos (valvas, cuerdas, etc.) con los DFS formados pueden ser trasladados al mar para su posterior

crecimiento. El cultivo por propagación vegetativa tiene la ventaja de poder realizarse a lo largo de todo el año dado que no depende de individuos con estructuras reproductivas; ya que estos en muchos casos son escasos en cierto tiempo del año o en determinadas regiones (Manual de cultivo de *C. chamissoi* “chicorea de mar” – UCN). Además es una metodología sencilla y no necesita mayor tiempo en condiciones controladas (los talos fragmentados pueden entrelazarse entre las cuerdas y enseguida puestas en el mar; en el caso de la formación de DFS, generalmente puede estar solo 1 mes en condiciones controladas hasta la formación de discos para luego ser sembradas en el mar). Sin embargo, para la propagación vegetativa se necesita una considerable cantidad de biomasa inicial y dado que no se puede determinar con exactitud el estadio de los individuos que darán inicio al proceso, el cultivo resultante puede ser muy heterogéneo. Una característica no menor de generar “clones” es la disminución de la variabilidad genética lo que podría generar problemas adaptativos a condiciones cambiantes del medio. Bulboa *et al.* (2005), Bulboa & Macchiavello (2006) y Bulboa (2006) demostraron que se puede desarrollar el cultivo por medio de talos fragmentados hasta en épocas invernales donde la productividad natural es baja, sin embargo, esta metodología necesita abundante biomasa (Bulboa *et al.*, 2013). Otaíza & Fonseca (2011) estudiaron el efecto del calcio en la formación de estructuras de fijación secundaria cuando se fragmenta el talo. Este trabajo dio pautas para el desarrollo de nuevos procedimientos de cultivo “free living” tanto para procesos de cultivo con fines productivos y de repoblamiento. Así mismo, el cultivo vegetativo mediante la formación de discos de fijación secundaria (DFS) resulta ser más conveniente dado que los DFS son muy resistentes y se adaptan a las condiciones del mar rápidamente (Manual de cultivo de *C. chamissoi* “chicorea de mar” - UCN).

Bulboa *et al.* (2013) demostró la factibilidad de esta técnica de cultivo como una alternativa al cultivo vegetativo por fragmentación de talos y al cultivo vía esporas. Este trabajo determinó que las condiciones más adecuadas para el cultivo mediante formación de DFS es utilizar individuos vegetativos (sin estructuras reproductivas evidentes). Después de 40 días de cultivo este experimento obtuvo entre  $2 \pm 1$  y  $20 \pm 8$  DFS/valva con una longitud de brotes entre  $0,2 \pm 0,03$  y  $3,5 \pm 1,2$  mm con tasas de supervivencia entre  $60 \pm 12$  y 100%; además determinó la necesidad de mantener flujos de agua de mar continuos a diferencia de sistemas sin flujo (solo con recambio) dado que permitieron el desarrollo con éxito de los DFS, aliviando la necesidad de la incorporación de nutrientes externos

disminuyendo de esta manera los costos asociados con la misma. Los resultados coinciden con lo dicho por Maggs & Callow (2003) quienes señalan que en diversas especies de algas se asigna un 40-50% de la producción anual de su biomasa a su esfuerzo reproductivo (formación de estructuras reproductivas: tetrasporangios, cistocarpos, etc.), por ende, su capacidad vegetativa puede verse reducida.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

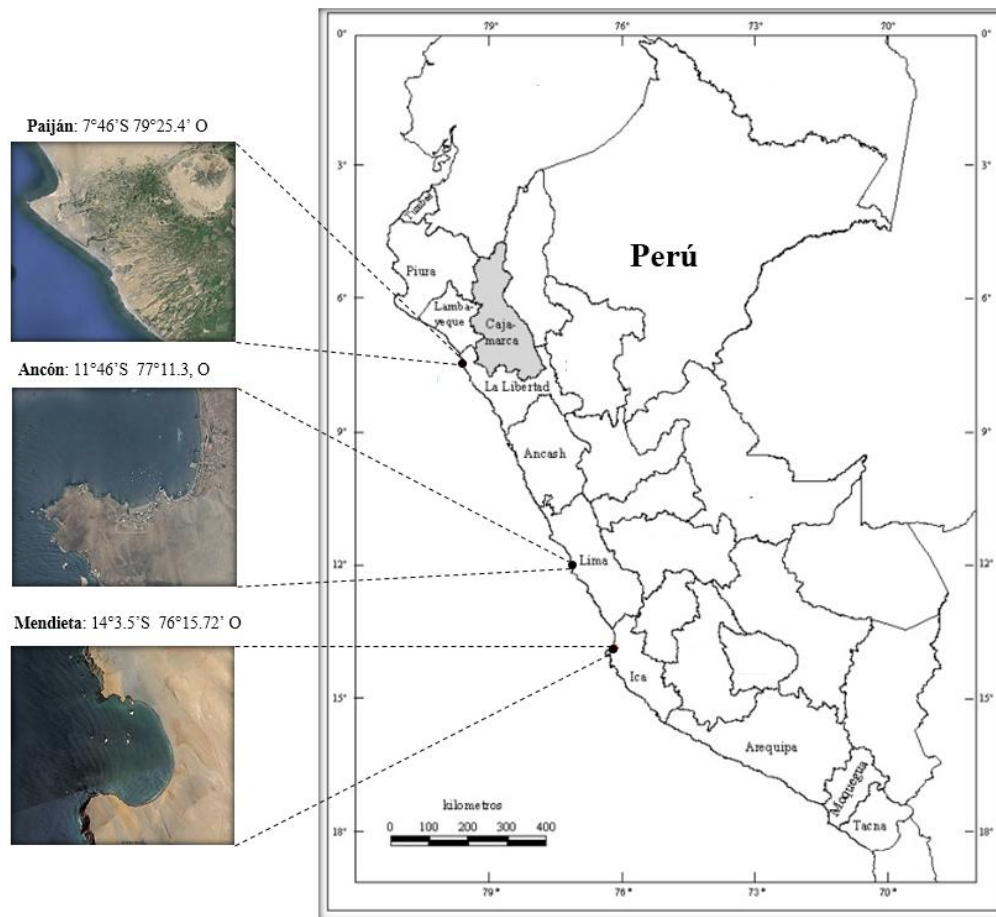
#### 3.1. Recolección y traslado del material biológico

El material biológico fue colectado mediante buceo autónomo y/o colecta manual de las poblaciones naturales de Paiján (Ascope – La Libertad), Ancón (Lima) y Mendieta (Ica) entre los meses de junio y julio del 2015 (Tabla 1)

**Tabla 1.** Coordenadas referenciales de los puntos de colecta del material biológico.

<b>Procedencia de las poblaciones naturales</b>	<b>Coordenadas referenciales</b>	
Paiján	7° 46' S	79° 25.4' O
Ancón	11° 46' S	77° 11.3' O
Mendieta	14° 3.5' S	76° 15.72' O

Las algas colectadas fueron llevadas al laboratorio Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos (IMARPE - Callao) en contenedores térmicos (tipo cooler) con gel pack para mantener niveles de temperatura bajos, evitando su exposición al sol y la pérdida de humedad de las mismas (Figura 3). Una vez en el laboratorio, las algas fueron sometidas a procesos de estricta limpieza, retirando organismos epifitos y demás impurezas, enjuagando con agua de mar esterilizada hasta evidenciar la limpieza del material biológico. Una vez realizada la limpieza se seleccionaron 15 individuos cistocárpicos (individuos con cistocarpos) y 15 individuos vegetativos (individuos que no presenten estructuras reproductivas evidentes) de las tres poblaciones de estudio para análisis posteriores.



**Figura 2.** Ubicación referencial de los puntos de colecta de *C. chamissoi* en el Perú.



**Figura 3.** Colecta de material biológico de una pradera natural. **a.** Colecta manual de *C. chamissoi* en una pradera submareal de Ancón. **b.** Material colectado en un contenedor térmico para su traslado al laboratorio.



### 3.2. Caracterización morfológica

Se realizó la caracterización morfológica que consistió en un análisis cuantitativo (talla, peso y grosor) y cualitativo (coloración y forma del talo) de los individuos seleccionados de las tres poblaciones de estudio. Los individuos vegetativos solo fueron caracterizados cualitativamente. Para la medición de la talla (cm) y grosor (mm) se utilizó una regla milimetrada (Figura 4). El grosor fue determinado mediante un promedio de 5 mediciones a lo largo de la rama principal (Figura 4 b). Una vez determinada la talla y el grosor, los individuos fueron pesados en una balanza digital (0.01 g de precisión).

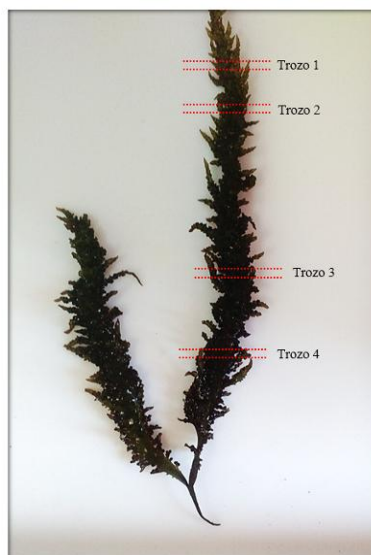


**Figura 4.** Morfología externa de dos individuos de *C. chamissoi* mostrando los puntos de medición.

La caracterización cualitativa se realizó mediante observación directa del material biológico sobre fuentes de plástico de color blanco. Se determinó el color (verde claro, verde oscuro, marrón claro, etc.) y la forma del talo (tipo de ramificación y distribución de las pínulas). Todos estos análisis (cuantitativos y cualitativos) fueron realizados rápida y cuidadosamente evitando el estrés del material biológico antes de iniciar los procedimientos de cultivo. Posterior al análisis morfológico, los individuos vegetativos fueron trasladados al laboratorio de Eco-fisiología (IMARPE - Callao) para la siguiente etapa del estudio, mientras que los individuos cistocárpicos fueron mantenidos en el laboratorio Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos para la determinación del potencial reproductivo.

### 3.3. Potencial reproductivo (PR)

Para determinar el PR según Alveal (2001) se calculó el número de cistocarpos por gramo, el número de cistocarpos por individuo y el número de carposporas por cistocarpo de los 15 individuos cistocárpico de cada población de estudio. Para determinar el número de cistocarpos por gramo se cortó 4 trozos pequeños de 1 cm aproximadamente de largo de la zona media y ápice de la rama principal de cada individuo cistocárpico (Figura 5). Posteriormente cada trocito fue pesado en una balanza digital (0.01 g de precisión) y se realizaron conteos de los cistocarpos presentes en cada trocito haciendo uso de un estereoscopio (Figura 6). De esta manera se obtuvo la relación número de cistocarpos por peso del trocito de alga, valor que se estandarizó a número de cistocarpos por 1 gramo de alga. Finalmente, mediante un promedio de los cuatro valores (correspondiente a cada trocito) se determinó el valor del número de cistocarpos por gramo de cada individuo cistocárpico de estudio. Luego de realizado los cortes, los individuos cistocárpico estuvieron listos para la elaboración de los “caldos” de esporas, proceso que se detallará en el siguiente capítulo.

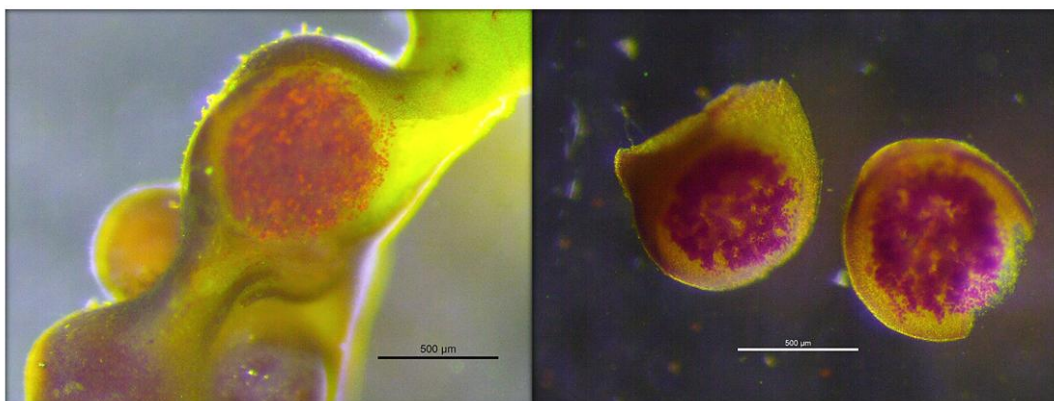


**Figura 5.** Nivel de cortes en la rama principal de *C. chamissoi* para realizar los conteos (número de carposporas por gramo). Se realizaron 4 cortes en la rama principal de *C. chamissoi* para realizar los conteos posteriores.



**Figura 6.** Distribución de cistocarpos en las frondas de *C. chamissoi*. **a.** Ancón. **b.** Paiján. **c.** Mendieta.

Luego de determinar el número de cistocarpos por gramo, se calculó el número de carposporas por cistocarpo; para lo cual se diseccionó cuidadosamente con un bisturí 3 cistocarpos maduros de cada trocito (totalizando 12 cistocarpos por individuo) (Figura 7). La disección de cada cistocarpo se realizó por separado en una placa petri con 5 ml de agua de mar esterilizada con la ayuda de pinzas y estiletes obteniéndose como resultado final una dispersión uniforme de carposporas. Posteriormente se tomaron alícuotas de 1 ml y se contaron la cantidad de carposporas en una cámara Sedgewick Rafter en un microscopio. Se realizaron 2 conteos por cistocarpo (6 conteos por trozo totalizando 24 conteos por individuo). Los resultados de cada conteo fueron extrapolados al volumen total de agua de mar en las placas petri (5 ml) para determinar el número total de carposporas. De esta manera se analizó el número de carposporas por cistocarpo de los 15 individuos cistocárpicos para cada población.



**Figura 7.** Cortes de cistocarpos de *C. chamissoi* para liberar las carposporas.

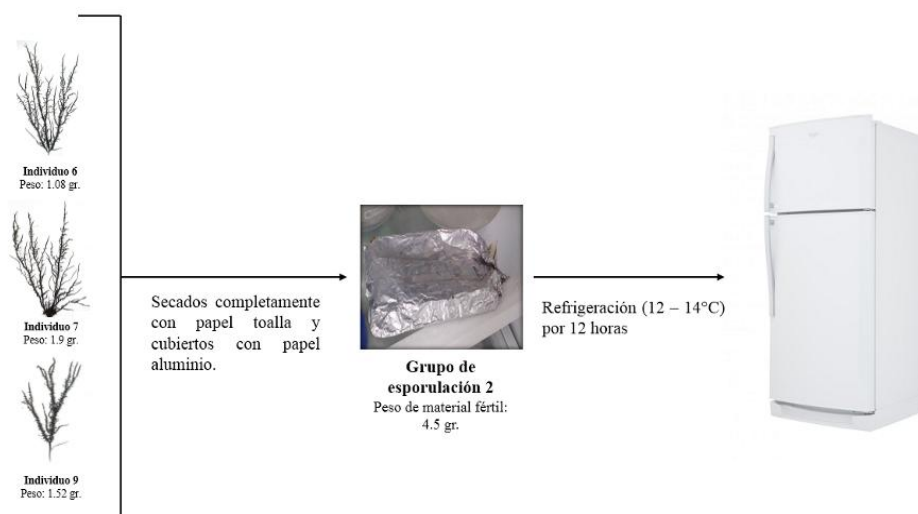
Para el cálculo del PR para cada individuo cistocárpico de las poblaciones de estudio, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Producción total de carposporas} = \text{Número de cistocarpos por gramo} \times \text{Peso total del individuo (gr.)} \times \text{Número de carposporas por cistocarpo}$$

### 3.4. Cultivo a partir de carposporas

#### 3.4.1. Determinación de la densidad del “caldo” de carposporas (Dc)

Para calcular la densidad del “caldo” de carposporas o número de carposporas liberadas en el caldo de cultivo los individuos cistocárpicos fueron divididos en 4 “grupos de esporulación” de 5 gramos cada uno (aproximadamente). Posteriormente fueron secados completamente con papel toalla para luego ser recubiertos con papel aluminio y puestos en un refrigerador a 12 – 14 °C por 3 horas para inducir a la esporulación mediante estrés por desecamiento, oscuridad y variación de la temperatura (Figura 8). Este procedimiento se realizó de igual manera en las tres poblaciones de estudio a pesar que hubo ciertas diferencias en la conformación de los grupos de esporulación entre las tres poblaciones. (Los individuos de Ancón formaron un grupo de esporulación con un solo individuo a diferencia de Paiján que se necesitó de 3 a 5 individuos para formar cada grupo).

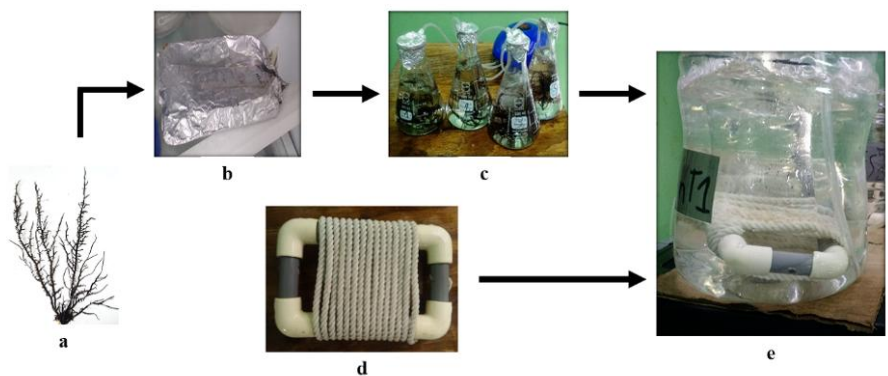


**Figura 8.** Etapas para inducir a la esporulación de especímenes de *C. chamissoi*. Un grupo de 3 individuos para completar 4.5 – 5 g.

Pasadas 3 horas, cada grupo de algas fue colocado en matraces de 500 ml con agua de mar filtrada en condiciones de media intensidad lumínica ( $40 \text{ umoles.foton.s}^{-1}$ ), temperatura ( $19 - 20^\circ\text{C}$ ) y abundante aireación con la finalidad de que los individuos puedan liberar sus carposporas y constituir finalmente los “caldos”. Se realizaron 4 “caldos” por población (correspondiente a los 4 grupos de esporulación) (Figura 9). Para determinar el número de carposporas por mililitro se realizaron 3 conteos por matraz en la cámara Sedgewick Rafter en un microscopio pasadas 12 horas desde el momento que se colocó el material fértil. Con el valor del número de esporas por mililitro se utilizó la siguiente fórmula para calcular la densidad de carposporas del caldo ( $D_c$ ).

$$D_c = \frac{\text{Número de carposporas por mL}}{\text{Volumen total del "caldo" (mL)}} \times \text{Volumen total del "caldo" (mL)}$$

Posterior al conteo del número de esporas de cada matraz, se realizó la inoculación de los “caldos” a los sistemas de cultivo con los sustratos experimentales (Figura 9)



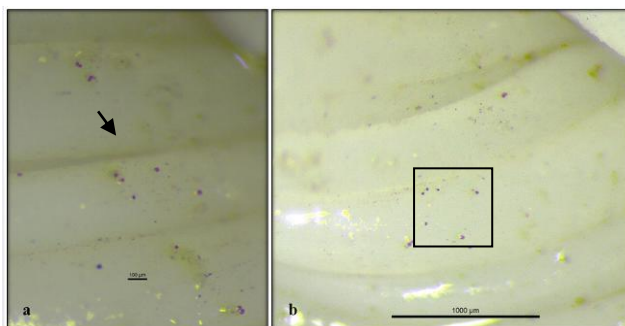
**Figura 9.** Sistema de cultivo a partir de carposporas. **a:** Individuo cistocárpico. **b:** estrés para inducir la esporulación. **c:** “caldo” de carposporas (4 “caldos” por población). **d:** bastidores (PVC enrollado con cuerdas de polipropileno) dentro de botellas de plástico. **e:** inoculación de los “caldos” en los sistemas de cultivo.

Para la inoculación de los “caldos” de carposporas de los matraces a los sistemas de cultivo (botellas de plástico de 4 litros de capacidad con sistema de aireación) se mantuvo estos sistemas solo con 1 litro de agua de mar filtrada con muy poca aireación para propiciar el asentamiento de las esporas sobre los bastidores. Dentro de los sistemas de cultivo se colocaron los bastidores (sistemas de asentamiento) que consistían en una estructura de

tubos de PVC enrollados en cuerdas de polipropileno que previamente fueron curadas con bicarbonato de sodio (las cuerdas de polipropileno fueron hervidas por una hora con 3 a 4 cucharadas de bicarbonato de sodio) (Figura 9). Cada bastidor presentó un área efectiva para el asentamiento de  $90 \text{ cm}^2$  ( $9000 \text{ mm}^2$ ) la cual estuvo expuesta directamente a la “lluvia de esporas”. Cabe indicar que solo se realizó la “lluvia” de esporas a una sola superficie del bastidor no a ambas. Se inocularon 4 sistemas de cultivo por población (correspondiente a 4 “caldos” de carposporas). Se mantuvo los sistemas de cultivo por 24 horas bajo condiciones de poca aireación, temperatura del agua de mar de  $19 - 22^\circ\text{C}$ , fotoperiodo de 12:12 y flujo fotónico de  $60 - 80 \mu\text{moles.foton.s}^{-1}$

### 3.4.2. Determinación del número de carposporas asentadas

El valor del número de carposporas asentadas fue calculado pasadas 24 horas desde la inoculación de los “caldos” de carposporas a los sistemas de cultivo. Para su cálculo se retiraron los bastidores y se contabilizó el número de carposporas asentadas en un estereoscopio (Figura 10).



**Figura 10.** Porciones de cuerda mostrando carposporas asentadas. a. Carposporas (flecha). b. Área de  $1 \text{ mm}^2$  utilizada para realizar el conteo de carposporas asentadas para el cálculo del P.R.

Se realizaron conteos de 25 áreas de  $1 \text{ mm}^2$ , seleccionadas aleatoriamente de la superficie total de cada bastidor (Figura 10) y posteriormente, los resultados fueron extrapolados a la superficie total del bastidor ( $9000 \text{ mm}^2$ ). Posteriormente se realizó la relación número de carposporas/ $\text{cm}^2$ . Se midieron 4 bastidores por población correspondientes a los 4 sistemas de cultivo. Este proceso fue llevado a cabo de manera rápida para no exponer mucho tiempo fuera del agua a los bastidores con las carposporas asentadas (15 – 20 min por bastidor). Finalmente, después de realizados los conteos respectivos, los bastidores fueron

llevados nuevamente a los sistemas de cultivo que previamente habían sido lavados con agua dulce para eliminar cualquier residuo del “caldo”. Cada sistema de cultivo de 4 L contenía agua de mar filtrada (20, 10, 5 y 1  $\mu\text{m}$ ) con abundante aireación y un bastidor colocado en el fondo horizontalmente orientado hacia la luz (Figura 9).

### 3.4.3. Evaluación de crecimiento y desarrollo del cultivo.

Se realizaron mediciones semanales o quincenales de la talla de 50 individuos de *C. chamissoi* seleccionados aleatoriamente de cada bastidor en un estereoscopio por 120 días. Este proceso fue llevado a cabo de manera rápida para no exponer mucho tiempo fuera del agua a los bastidores con los individuos desarrollándose (30 - 45 min por bastidor). Luego de la medición, los bastidores fueron inmediatamente regresados a los sistemas de cultivo. Con la talla, se determinó la tasa de crecimiento mediante la siguiente fórmula, detallada por Bulboa (2006):

$$\text{TC (\% /día)} = \{[(T_f/T_o)^{1/t}] - 1\} \cdot 100$$

Donde “ $T_f$ ” es la talla final, “ $T_o$ ” fue la talla inicial y “ $t$ ” el tiempo de cultivo. El valor de la tasa de crecimiento (TC) fue calculado para cada sistema de cultivo (4 por población) y posteriormente promediado para realizar las comparaciones respectivas. El tiempo de análisis fue de 120 días. Así mismo, los cultivos de las 3 poblaciones fueron a temperaturas variables de 19 a 22°C a lo largo del experimento, un sistema de luces LED en frío para evitar el calentamiento del agua con un fotoperiodo fijo regulado por un *timer* de 16:8 (L/O), flujo fotónico fijo de 60  $\mu\text{moles.foton.s}^{-1}$  y abundante aireación (Figura 11). Además, se realizaron dos recambios de agua semanal del 50 % de agua de mar agregando en ese momento 0.5 mL de nutriente foliar comercial a una razón de 12 mg N/L, 1.6 mg P/L y 2.92 mg K/L en cada recambio. Cabe resaltar que cada sistema de cultivo era independiente uno de otro (no se tenía un sistema de recirculación ni flujo continuo de agua), pero sí estuvieron expuestos a las mismas condiciones de cultivo.





**Figura 11.** Sistemas de cultivo de *C. chamissoi*. Botellas de 4 L con aireación y luces LED.

#### 3.4.4. Evaluación de la supervivencia.

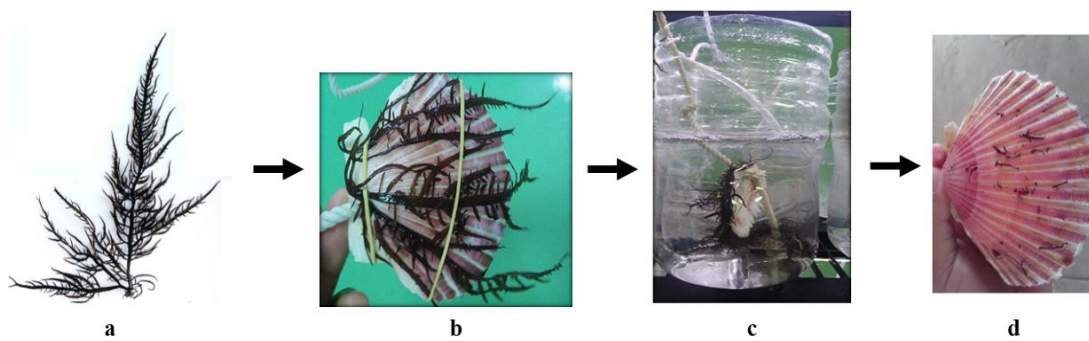
Se determinó el número de plántulas de *C. chamissoi* que sobrevivieron al final del experimento (120 días de cultivo aproximadamente) por conteo directo de 25 áreas de 1 cm<sup>2</sup> seleccionadas aleatoriamente de la superficie de cada bastidor en un estereoscopio. Este proceso fue muy similar al cálculo del asentamiento inicial de carposporas y también se realizó el cálculo respectivo para determinar el número de plántulas sobre toda el área del bastidor (90 cm<sup>2</sup>). Finalmente se realizó un análisis comparativo con el número de carposporas asentadas al inicio del experimento y el número de plántulas al final del experimento para determinar el porcentaje de supervivencia.

### **3.5. Cultivo vegetativo por formación de Discos de fijación secundaria (DFS)**

#### 3.5.1. Evaluación del número de DFS formados

Los individuos seleccionados previamente como vegetativos (que no presentaban estructuras reproductivas evidentes) fueron fijados sobre valvas de *Argopecten purpuratus* con ayuda de una liga con la finalidad de que todos los puntos de contacto generen discos de fijación secundaria (DFS) (Figura 12). Previamente las valvas fueron lavadas con agua de mar para limpiar impurezas y se les colocó una cuerda en la parte posterior para poder colgarlas de los sistemas de cultivo (Figura 12).





**Figura 12.** Sistema de cultivo vegetativo para la formación de discos de fijación secundaria (DFS). **a:** Individuo vegetativo (Sin estructuras vegetativas evidentes). **b:** fijación de la fronda sobre las valvas de *Argopecten purpuratus* con una liga. **c:** valvas en el sistema de cultivo. **d.** obtención de DFS y retiro del alga.

Las valvas con las algas fijadas fueron puestas en los sistemas de cultivo (bidones de 4 litros de capacidad) con abundante aireación por 15 a 20 días para inducir la formación de DFS en dirección perpendicular a la luz en condiciones de cultivo estándares (Figura 12). Se pusieron dos valvas con algas por sistema de cultivo (8 valvas por población). Pasado ese tiempo, las algas fueron retiradas y se determinó mediante conteo directo el número de DFS formados en cada valva en un estereoscopio. Las valvas que no presentaron DFS formados fueron retiradas del experimento.

### 3.5.2. Evaluación del crecimiento y desarrollo del cultivo

Se realizaron conteos semanales o quincenales del número de DFS y de la talla de todos los DFS formados por valva en un estereoscopio (Figura 13). Este proceso fue llevado a cabo de manera rápida para no exponer mucho tiempo fuera del agua a los bastidores con las individuos desarrollándose (20 - 25 min por valva). Luego del conteo y la medición, las valvas fueron inmediatamente regresadas a los sistemas de cultivo. Con la talla de los DFS se determinó la tasa de crecimiento mediante la misma fórmula utilizada para el cultivo a partir de esporas:

$$TC (\% /\text{día}) = \{[(Tf/To)^{1/t}] - 1\} \cdot 100$$

Donde “Tf” es la talla final, “To” fue la talla inicial y “t” el tiempo de cultivo. El valor de la tasa de crecimiento (TC) fue calculado para cada valva (2 valvas por sistema de cultivo

y 8 por población) y posteriormente promediado para realizar las comparaciones respectivas. El tiempo de análisis fue de 120 días.



**Figura 13.** Evaluación de crecimiento de los DFS con equipo óptico.

Al igual que el cultivo a partir de esporas, los cultivos vegetativos de las 3 poblaciones fueron llevados en condiciones estándares: temperaturas variables de 19 a 22°C a lo largo del experimento, un sistema de luces LED en frío para evitar el calentamiento del agua con un fotoperiodo regulado por un *timer* de 16:8 (L/O), flujo fotónico de 60  $\mu\text{moles.foton.s}^{-1}$  y abundante aireación. Así también, se realizaron dos recambios de agua semanal del 50 % de agua de mar agregando en ese momento 0.5 ml de nutriente foliar comercial a una razón de 12 mgN/L, 1,6 mgP/L y 2.92 mgK/L en cada recambio. Cabe resaltar también, que cada sistema de cultivo era independiente uno de otro (no se tenía un sistema de recirculación), pero sí estuvieron expuestos a las mismas condiciones de cultivo.

### 3.5.3. Evaluación de la supervivencia

Se determinó el número de DFS de *C. chamissoi* por valva que sobrevivieron al final del experimento (120 días aproximadamente) por conteo directo en un estereoscopio. Finalmente se realizó la comparación con el número de DFS contabilizados al inicio del cultivo para determinar la supervivencia.

### **3.6. Análisis estadístico**

Se realizó la prueba de normalidad a todas las variables estudiadas mediante la prueba de Anderson-Darling ( $\alpha=0.05$ ). Posteriormente si la variable presentó distribución normal, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) ( $\alpha=0.05$ ) para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos (poblaciones) y posteriormente si fuese necesario se realizó la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). En caso las variables no cumplieran con el supuesto de normalidad se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal - Wallis ( $\alpha=0.05$ ) para determinar la existencia de diferencias significativas y posteriormente si fuese necesario la prueba de Mann - Whitney ( $\alpha=0.05$ ) para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos (poblaciones). Todas las pruebas se realizaron usando el paquete estadístico MINITAB 17. En algunas variables se llegó a verificar la existencia de diferencias significativa entre los tratamientos (poblaciones) mediante la prueba Kruskal - Wallis ( $\alpha=0.05$ ) pero no se pudo verificar dichas diferencias con la prueba de Mann - Whitney, por lo tanto, dichas diferencias fueron determinadas a criterio teniendo en consideración la media de los resultados.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Resultados

#### 4.1.1. Caracterización morfológica

Los especímenes de Ancón fueron colectados entre los 0.5 y 1 m. de profundidad y presentaron una coloración marrón con tonalidades verdosas a contraluz (Figura 14). Los especímenes cistocárpicos tenían un talo membranoso, flexible y grueso (Grosor promedio:  $8.2 \pm 1.4$  mm).



**Figura 14.** Especímenes cistocárpicos de *C. chamissoi* de Ancón. Individuos con uno o más ejes principales con ramas laterales opuestas de igual o diferente tamaño.

Cerca de la base de la mayoría de los individuos se observó los talos divididos más de dos veces formando ejes principales engrosados extendidos a lo largo de las láminas con ramas laterales iguales o de diferente tamaño originadas sucesivamente (Figura 14). El peso varió entre los 2.12 y 7.73 g y la talla entre los 15 y 28 cm (Tabla 2). El diámetro de los cistocarpos varió entre 500 y 1000  $\mu\text{m}$  en promedio y se encontraron sobre toda la superficie del talo, ramas secundarias y pínulas (Figura 6 a).

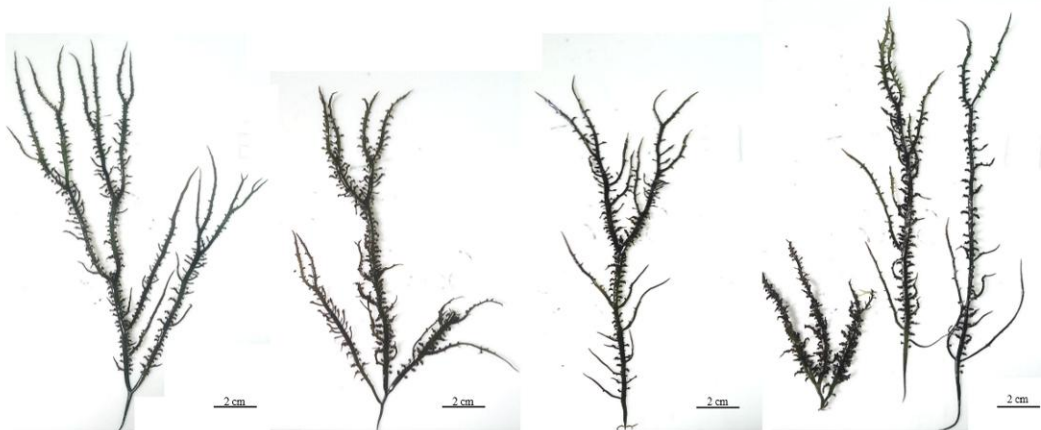
**Tabla 2.** Análisis morfológico de especímenes cistocárpicos de *C. chamissoi*.

		LOCALIDAD		
		Ancón	Paiján	Mendieta
<b>TALLA</b> (cm)	Máxima	28	21.5	22
	Mínima	15	10.5	11.2
	Promedio	22±3.6 (a)	16.6±3.9 (b)	16.4±3 (b)
<b>PESO</b> (g)	Máxima	7.73	2.37	5.2
	Mínima	2.12	0.55	0.9
	Promedio	5.06±1.5 (a)	1.21±0.6 (c)	2.42±1.3 (b)
<b>GROSOR</b> (mm)	Máxima	11	3.2	8
	Mínima	6	1.5	4
	Promedio	8.2±1.4 (a)	2.2±1.0 (c)	5.2±1.2 (b)

\*La significancia (a>b>c) fue determinada para la “talla” mediante un ANOVA ( $\alpha=0.05$ ) y luego una prueba de Tukey mientras que para el “peso” y “grosor” fue determinado por una prueba de Kruskal - Wallis ( $\alpha=0.05$ ) y luego una prueba de Mann – Whitney.

Los individuos vegetativos tuvieron una forma comprimida y achaparrada con un talo membranoso, flexible y con ápice puntiagudo. El talo estaba constituido por varios ejes erectos dísticamente ramificados de grosor moderado (4 – 6 mm) originados de un disco de fijación bien desarrollado (1 a 2 cm de diámetro). El tamaño promedio de los individuos fue de 5 a 10 cm.

Por otro lado, los especímenes de Paiján colectados entre 1 y 1.5 m. de profundidad, presentaron una coloración marrón oscuro-negruzco y verde oscuro a contraluz (Figura 15). Los especímenes cistocárpicos tuvieron un talo membranoso, poco flexible, muy delgado (grosor promedio:  $2.2 \pm 1.0$  mm) y uno o dos ejes principales con ramificación subdicotómica y ramas laterales opuestas de diferente tamaño (Figura 15). Generalmente presentaron ápice bifurcado (Figura 15). El peso de estos individuos estuvo comprendido entre los 0.55 y 2.37 g y la talla entre los 10.5 y 21.5 cm (Tabla 2). Así mismo, el diámetro de los cistocarpos estuvo comprendido entre 100 – 300  $\mu\text{m}$  y se encontraban distribuidos principalmente en los márgenes del talo y en las pínulas, rara vez sobre la superficie completa del talo (Figura 16, Figura 6 b).



**Figura 15.** Especímenes cistocárpicos de *C. chamissoi* de Paiján. Se observa un eje principal con ramificación subdicotómica, ramas principales distribuidas alternadamente y ápice bifurcado.



**Figura 16.** Distribución de cistocarpos en el talo de *C. chamissoi* de Paiján. Se observan los cistocarpos distribuidos en los márgenes del talo y sobre las pínulas.

Los individuos vegetativos presentaron una forma comprimida de 5 a 8 cm de tamaño promedio. El talo membranoso, poco flexible y muy delgado con un ápice puntiagudo estaba constituido por uno o varios ejes erectos sub dicotómicamente ramificados de grosor delgado (2 – 3 mm), de crecimiento difuso u ordenado originados de un disco de fijación pequeño (0.5 cm de diámetro) (Figura 17).





**Figura 17.** Especímenes vegetativos de *C. chamissoi* de Paiján. **a, b y c.** Se observa especímenes con uno o dos ejes principales delgados con ramas principales de crecimiento difuso y ápice puntiagudo. **d.** espécimen con crecimiento no difuso, talo sub dicotómico muy delgado, ramas principales alternas y ápice muy puntiagudo.

Finalmente, los especímenes de *Mendieta* colectados entre 1.5 y 2.5 m. de profundidad, presentaron una coloración marrón y verde claro a contraluz (Figura 18). Los especímenes cistocápicos tuvieron un talo membranoso, muy flexible, grueso (Grosor promedio  $5.2 \pm 1.2$  mm) con dos o más ejes principales engrosados con ramas laterales opuestas y/o dísticas y un ápice a veces romo y/o ligeramente puntiagudo (Figura 18). El peso de los individuos estuvo comprendido entre los 0.9 y 5.2 g y la talla entre los 11.2 y 22 cm (Tabla 2). Así mismo, el diámetro de los cistocarpos estuvo comprendido entre 500 – 800  $\mu\text{m}$  y se encontraban distribuidos en las márgenes del talo, las pinnas y en algunos individuos sobre toda la superficie del talo (Figura 6 c, Figura 19).

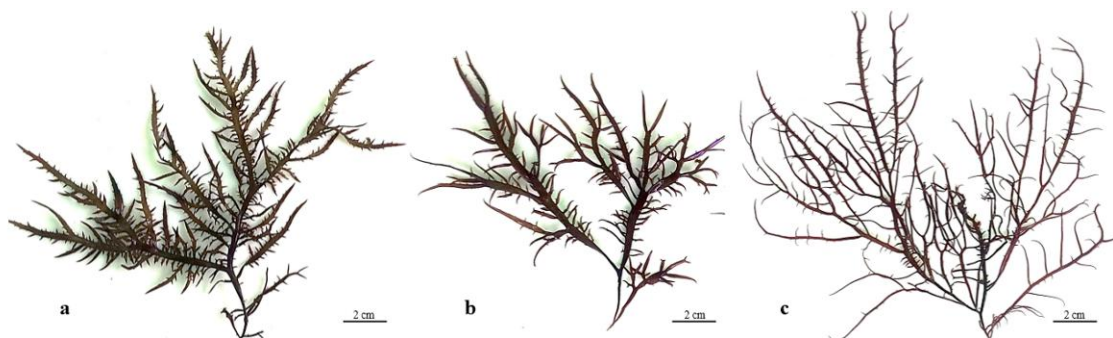


**Figura 18.** Especímenes cistocápicos de *C. chamissoi* de Mendieta. Se observan talos gruesos con 2 o más ejes principales con ramas laterales opuestas.



**Figura 19.** Distribución de cistocarpos en el talo de *C. chamissoi* de Mendieta. Los cistocarpos se distribuyen sobre toda la superficie del talo, ramas laterales y pinnulas.

Los individuos vegetativos presentaron un talo erecto, muy flexible, con una talla entre 5 a 8 cm y con dos o varios ejes erectos sub dicotómicos gruesos (5 - 7 mm) o delgados (2 - 3 mm) originados de un disco de fijación pequeño (0.6 cm de diámetro). Las ramas laterales alternas y/o dísticas con ápice puntiagudo a veces bifurcado (Figura 20).



**Figura 20.** Especímenes vegetativos de *C. chamissoi* de Mendieta. **a y b.** Especímenes con dos o más ejes principales gruesos (5 - 7 mm) con ápice puntiagudo. **c.** espécimen con talo delgado (2 - 3 mm), ápice puntiagudo y bifurcado.

#### 4.1.2. Potencial reproductivo (PR)

En los especímenes de Ancón el número de cistocarpos por gramo estuvo comprendido entre 2229 y 6200 y el número de cistocarpos por individuo entre 8643 y 16221. Así mismo, el número de carposporas por cistocarpo dio valores muy variables entre cistocarpos del mismo individuo (de 20000 a 40000). Por lo tanto, se utilizó para el cálculo el menor valor frecuente observado: 20000 carposporas por cistocarpo. Este cálculo se hizo



con la finalidad de obtener el mínimo valor seguro de PR. Finalmente el PR estuvo comprendido entre los valores de 172 864 800 y 539 748 000 (Tabla 3).

**Tabla 3.** Potencial reproductivo de *C. chamissoi*.

		LOCALIDAD		
		Ancón	Paiján	Mendieta
<b>Número de cistocarpos por gramo</b>	Máxima	6200	2742	3388
	Mínima	2229	1620	1160
	Promedio	3384 ±1017 (a)	2168±365 (b)	2199±642 (b)
<b>Número de cistocarpos totales (por individuo)</b>	Máxima	16221	4792	9070
	Mínima	8643	1021	1600
	Promedio	16488±5075 (a)	2574±1210 (c)	4819±2227 (b)
<b>Número de esporas por cistocarpo</b>	Máxima	40000	15000	60000
	Mínima	20000	5000	30000
	Valor utilizado	20000 (b)	5000 (c)	30000 (a)
<b>Potencial reproductivo</b>	Máxima	539 748 000	23 960 700	272 085 600
	Mínima	172 864 800	5 103 000	48 000 000
	Promedio	329 774 426 ± 101 495 938 (a)	12 869 573 ± 6 053 747 (c)	144 576 920 ± 66 824 693 (b)

\*La significancia (a>b>c) fue determinada por la prueba de Kruskal - Wallis ( $\alpha=0.05$ ) y luego la prueba de Mann - Whitney.

De otro lado, en los especímenes de Paiján el número de cistocarpos por gramo estuvo comprendido entre los valores de 1620 y 2742 y el número de cistocarpos por individuo entre 1021 y 4792. En esta población el número de carposporas por cistocarpo dio también valores variables entre cistocarpos del mismo individuo (de 5000 a 15000). Por lo tanto, se utilizó para el cálculo de la producción total de carposporas el menor valor frecuente observado: 5000 carposporas por cistocarpo. En consecuencia, el PR estuvo comprendido entre los valores de 5 103 000 y 23 960 700 (Tabla 3).

Finalmente, en los especímenes de Mendieta el número de cistocarpos por gramo estuvo comprendido entre los valores de 1160 y 3388 y el número de cistocarpos por individuo entre 1600 y 9070. Así mismo, al igual que Ancón y Paiján, el número de carposporas por cistocarpo dio valores muy variables entre cistocarpos del mismo individuo (de 30000 a 60000). Por lo tanto, se utilizó también para el cálculo del PR el menor valor frecuente observado: 30000 carposporas por cistocarpo. Finalmente el PR estuvo comprendido entre los valores de 48 000 000 y 272 085 600 (Tabla 3).

### 4.1.3. Cultivo a partir de carposporas

#### a. Densidad del “caldo” de carposporas (Dc)

La densidad de carposporas presentes en el “caldo” para Ancón fue en promedio 1 342 625 carposporas producidas por 4.52 g de material fértil en 500 ml de “caldo” (Tabla 4) teniendo una relación de 297041 carposporas liberadas por gramo de alga fértil.

**Tabla 4.** Densidad del “caldo” de carposporas de *C. chamissoi* de Ancón.

	<b>Peso alga fértil (g)</b>	<b>Densidad relativa (Número de esporas/ml)</b>	<b>Densidad del “caldo” de carposporas</b>
REPETICIÓN 1	5.19	3500	1 750 000
REPETICIÓN 2	4.20	1673	836500
REPETICIÓN 3	3.99	3000	1 500 000
REPETICIÓN 4	4.70	2568	1 284 000
PROMEDIO	4.52	2685.25	1 342 625

Para Paiján, la Dc fue en promedio 795 125 00 carposporas producidas por 4.55 g de material fértil en 500 ml de “caldo” (Tabla 5) teniendo una relación de 174 753 carposporas liberadas por gramo de alga fértil.

**Tabla 5.** Densidad del “caldo” de carposporas de *C. chamissoi* de Paiján.

	<b>Peso alga fértil (g)</b>	<b>Densidad relativa (Número de esporas/ml)</b>	<b>Densidad del “caldo” de carposporas</b>
REPETICIÓN 1	3.82	1455	727500
REPETICIÓN 2	4.50	2008	1 004 000
REPETICIÓN 3	4.59	1505	752500
REPETICIÓN 4	5.27	1393	696500
PROMEDIO	4.55	1590.25	795125

Para Mendieta, la Dc fue en promedio 1 134 500 carposporas producidas por 5.6 g de material fértil en 500 ml de “caldo” (Tabla 6) teniendo una relación de 202586 carposporas por gramo de alga fértil.

**Tabla 6.** Densidad del “caldo” de carposporas de *C. chamissoi* de Mendieta.

	<b>Peso alga fértil (g)</b>	<b>Densidad relativa (Número de esporas/mL)</b>	<b>Densidad del “caldo” de carposporas</b>
REPETICIÓN 1	5.3	2279	1 139 500
REPETICIÓN 2	4.8	1930	965000
REPETICIÓN 3	7.4	2769	1 384 500
REPETICIÓN 4	4.8	2098	1 049 000
PROMEDIO	5.6	2269	1 134 500

Un análisis comparativo de la Dc entre las tres localidades de estudio se detalla en la Tabla 7. El peso del alga fértil utilizado para la elaboración de los “caldos” de carposporas en las poblaciones de estudio no presentó diferencias significativas ya que se trató de tener pesos de alga fértil similares en todos los tratamientos experimentales (más o menos 5 g).

**Tabla 7.** Densidad de “caldos” de carposporas de las tres localidades de estudio.

	<b>Ancón</b>	<b>Paiján</b>	<b>Mendieta</b>
<b>Peso alga fértil (g)</b>	4.5±0.5 (a)	4.5±0.6 (a)	5.1±0.3 (a)
<b>Densidad relativa (Número de esporas/ml)</b>	2685.3±774.8 (a)	1590.3±282.2 (b)	2269±362.5 (a)
<b>Densidad del “caldo” de carposporas (Dc)</b>	1 342 625±387436 (a)	795 125±141121 (b)	1 134 500±181259 (a)

\*La significancia estadística (a>b>c) fue determinada por la prueba de Kruskal - Wallis ( $\alpha=0.05$ ) y posteriormente la prueba de Mann - Whitney.

#### b. Número de carposporas asentadas

Para Ancón, el valor promedio de las 4 repeticiones del número de carposporas asentadas después de 24 horas de la inoculación del “caldo”, fue de 67500 (Tabla 8). Este valor representa solo un 5% del total de carposporas que fueron inoculadas en los sustratos (Dc)

**Tabla 8.** Número de carposporas asentadas en un cultivo de *C. chamissoi* de Ancón

<b>Número de repetición</b>	<b>Número de carposporas viables/mm<sup>2</sup></b>	<b>Número de carposporas asentadas</b>
REPETICIÓN 1	9	81000
REPETICIÓN 2	6	54000
REPETICIÓN 3	8	72000
REPETICIÓN 4	7	63000
PROMEDIO	7.5~7	67500

Para Paiján, el valor promedio de las 4 repeticiones del número de carposporas asentadas después de 24 horas de la inoculación del “caldo” fue de 40500 (Tabla 9). Este valor es solo un 5% del total de carposporas que fueron inoculadas en los sustratos (Dc)

**Tabla 9.** Número de carposporas asentadas en un cultivo de *C. chamissoi* de Paiján.

	<b>Número de esporas viables/mm<sup>2</sup></b>	<b>Número de carposporas asentadas</b>
REPETICIÓN 1	4	36000
REPETICIÓN 2	5	45000
REPETICIÓN 3	5	45000
REPETICIÓN 4	4	36000
<b>PROMEDIO</b>	<b>4.5~4</b>	<b>40500</b>

Para Mendieta el valor promedio de las 4 repeticiones del número de carposporas asentadas después de 24 horas de la inoculación del “caldo” fue de 54000 (Tabla 10). Este valor es solo un 4.7% del total de carposporas que fueron inoculadas en los sustratos (Dc).

**Tabla 10.** Número de carposporas asentadas en un cultivo de *C. chamissoi* de Mendieta.

	<b>Número de esporas viables/mm<sup>2</sup></b>	<b>Número de carposporas asentadas</b>
REPETICIÓN 1	6	54000
REPETICIÓN 2	6	54000
REPETICIÓN 3	8	72000
REPETICIÓN 4	4	36000
<b>PROMEDIO</b>	<b>6</b>	<b>54000</b>

Un análisis comparativo del número de carposporas asentadas entre las poblaciones de estudio demostró la existencia de diferencias significativas entre ellos (Tabla 11).

**Tabla 11.** Análisis comparativo del número de carposporas asentadas entre las localidades de estudio

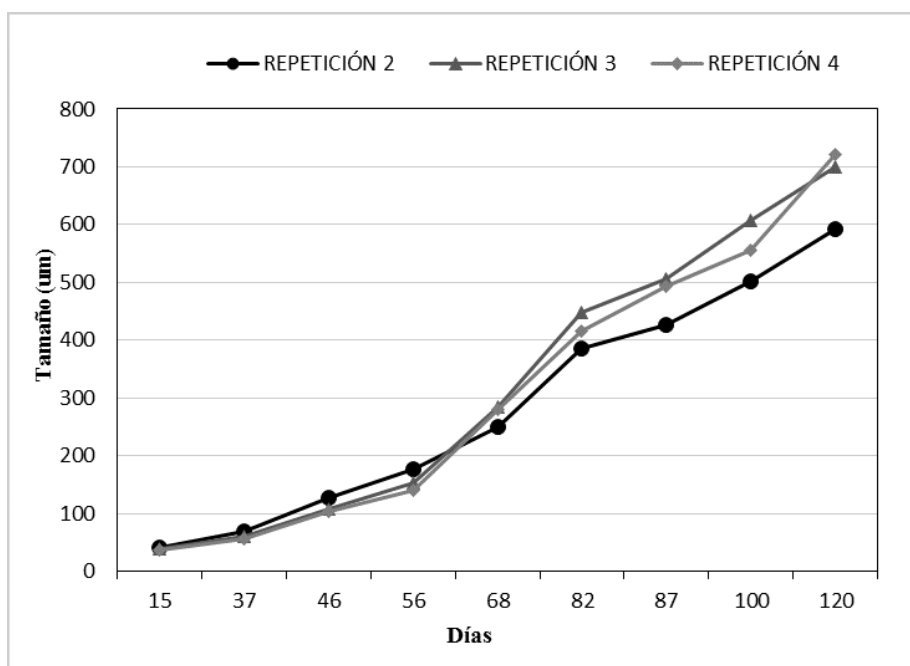
	<b>Ancón</b>	<b>Paiján</b>	<b>Mendieta</b>
Número de esporas viables/cm <sup>2</sup>	750 ± 100 (a)	450 ± 50 (c)	600 ± 100 (b)
Número de carposporas asentadas	67500 ± 11620 (a)	40500 ± 5196 (c)	54000 ± 14697 (b)

\*Se determinó mediante la prueba de Kruskal - Wallis ( $\alpha=0.05$ ) que los valores son significativamente diferentes entre las poblaciones, sin embargo la prueba de Mann-Whitney no se evidenció dichas diferencias. Los valores: a, b y c fueron colocados a criterio según los resultados experimentales observados.

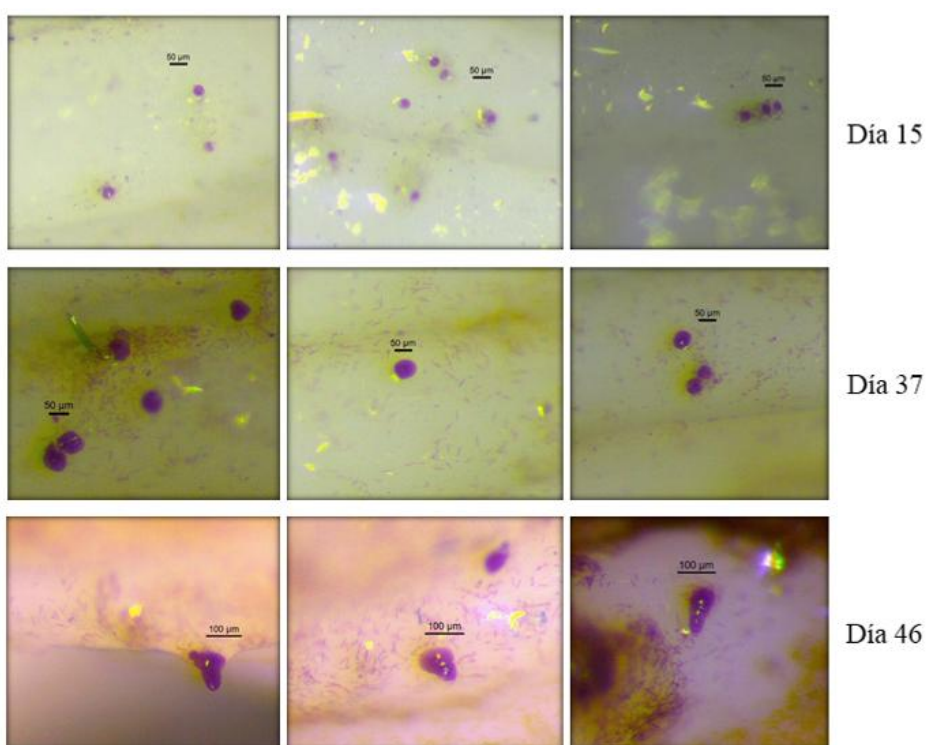
### c. Crecimiento y desarrollo del cultivo

La evaluación del crecimiento de las plántulas de *C. chamissoi* en el cultivo a partir de carposporas tuvo una duración de 120 - 122 días que se inició en la inoculación de los “caldos” de carposporas sobre los bastidores. Las condiciones de cultivo fueron similares entre todos los tratamientos a lo largo del cultivo: La temperatura estuvo entre 19 – 22°C, el fotoperiodo fue: 16/8 (Luz/Oscuridad), el flujo fotónico de 60 – 70  $\mu\text{moles.foton.s}^{-1}$ , el pH se mantuvo entre 7.5 -7.8 y la salinidad entre 35 – 36 ppm. Sin embargo, hay que señalar que los valores de salinidad iban hasta 37 o 38 ppm momentos antes de realizar el recambio de agua (Cuando solamente se hacían 2 recambios de agua); por lo que se tuvo que añadir un recambio de agua más (3 veces por semana) para evitar los cambios bruscos de salinidad. Por otro lado, se mantuvieron todos los sistemas de cultivo con aireación constante a lo largo de todo el experimento a la medida de lo posible y se adicionaron 0.5 ml de nutriente foliar comercial a una razón de 12 mg N/L, 1,6 mg P/L y 2.92 mg K/L dos veces por semana (3 días de diferencia). A continuación, se detallará los resultados obtenidos para cada población.

Para Ancón, el crecimiento fue uniforme entre las repeticiones de estudio (Figura 21, 22 y 23). La repetición 1 (R1) fue retirada del análisis debido que a los 15 días de iniciado el experimento se observó precipitación de sales sobre toda el área del bastidor ocasionado presumiblemente por un agregado excesivo de nutriente foliar. Este inconveniente ocasionó una elevación en la salinidad del agua (39 ppm) y por ende altas mortalidades en ese sistema de cultivo; por lo cual, R1 tuvo que ser separada del experimento para que no ocasionase una sub estimación del crecimiento. Finalmente se obtuvo una talla final promedio de  $671.1 \pm 69.5 \mu\text{m}$  tasa de crecimiento promedio de  $2.4 \pm 0.12 \text{ \%/día}$  (Tabla 12).

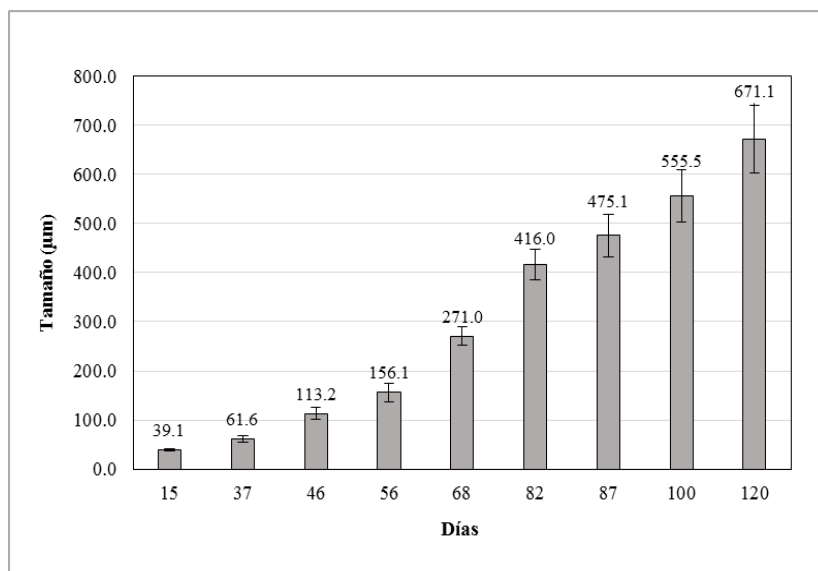


**Figura 21.** Crecimiento de plántulas de *C. chamissoi* de Ancón a partir carposporas.





**Figura 22.** Desarrollo de *C. chamissoi* de Ancón a partir de carposporas sobre cuerdas de polipropileno.



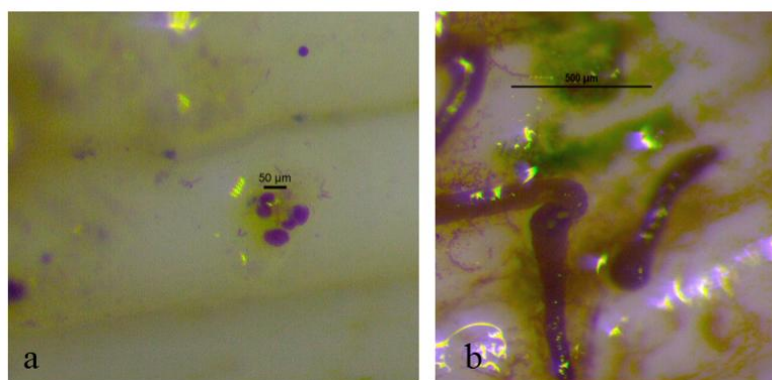
**Figura 23.** Talla promedio de plántulas de *C. chamissoi* de Ancón a lo largo del cultivo a partir de carposporas. El cultivo tuvo una duración de 120 días.

**Tabla 12.** Tasa de crecimiento de *C. chamissoi* en un cultivo a partir de carposporas.

		LOCALIDAD		
		Ancón	Paiján	Mendieta
TASA DE CRECIMIENTO (%/día)	R1	-	1.60	2.30
	R2	2.26	1.57	2.33
	R3	2.43	1.50	-
	R4	2.49	1.61	2.27
	Promedio	2.4±0.12 (a)	1.6±0.05 (b)	2.3±0.03 (a)

\*La significancia estadística (A>B>C) fue determinada por la prueba de Kruskal - Wallis ( $\alpha=0.05$ ) y luego la prueba de Mann - Whitney

Cabe resaltar que en esta población se observó una abundante cantidad de plántulas desarrollándose sin haberse asentado (sin formación de disco). Estos individuos crecían embebidos en una matriz gelatinosa (Biofilm) que se presentaba en la superficie de los bastidores en todas las repeticiones de esta población (Figura 24) y no fueron tomados en cuenta para el cálculo del P.R y la evaluación de crecimiento puesto que podían desprenderse en cualquier momento de los sustratos de cultivo (cuerdas de polipropileno) por lo tanto no se consideraron individuos viables.

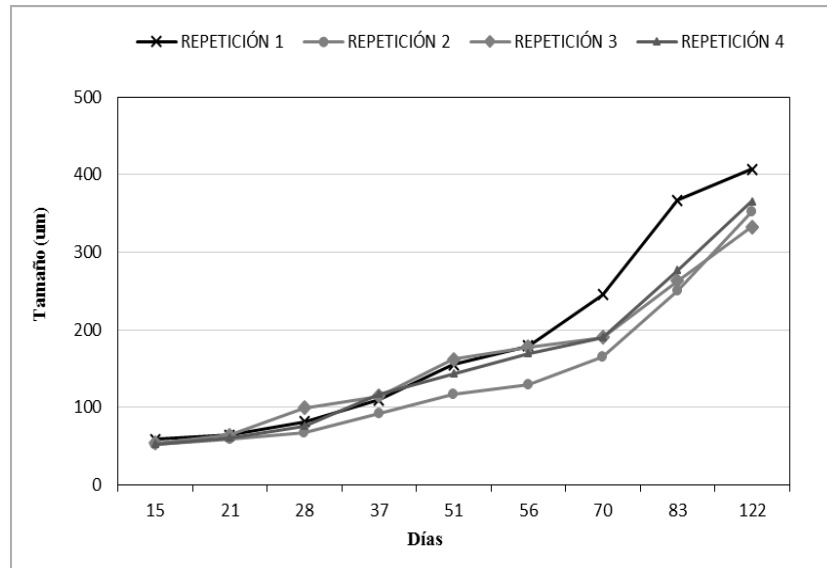


**Figura 24.** Crecimiento de *C. chamissoi* en una matriz gelatinosa sobre cuerdas de polipropileno. **a.** Individuos no muestran disco de fijación a los 37 días de iniciado el cultivo. **b.** Individuos mostrando base redondeada los 120 días.

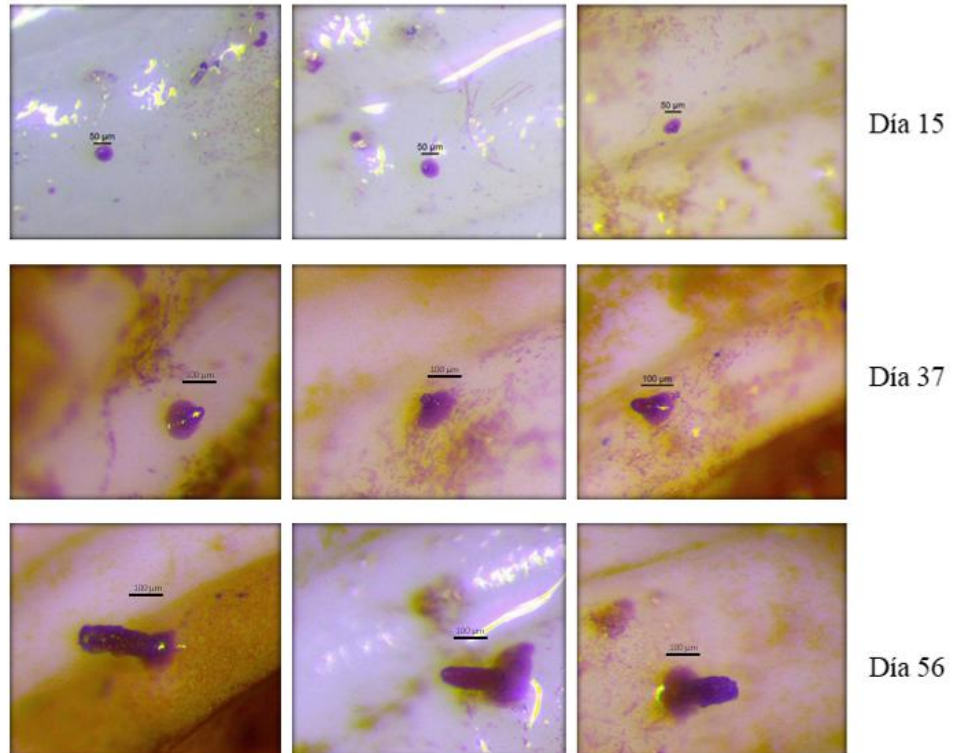
Para Paiján, el crecimiento también fue uniforme entre las repeticiones de estudio sin embargo con valores mucho menores que Ancón (Figura 25,26 y 27). Así mismo, a diferencia de Ancón, se observó un buen asentamiento de las carposporas en todas las repeticiones evidenciado por la poca cantidad de plántulas desarrolladas sin formación de

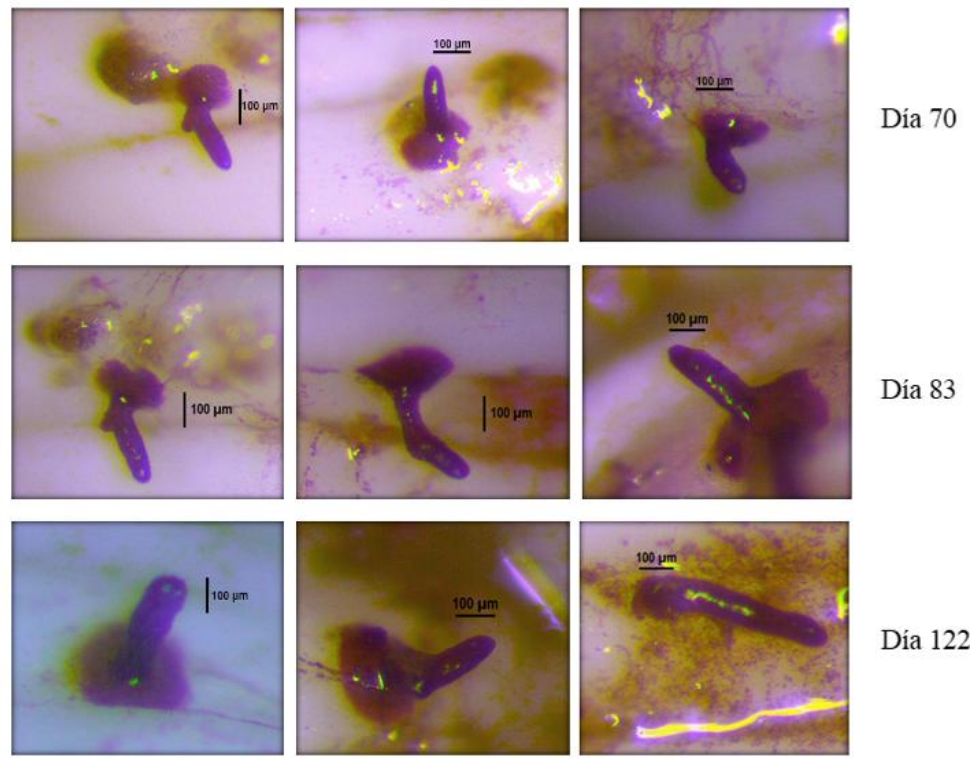


disco. Se obtuvo una talla final de  $364.3 \pm 31.6 \mu\text{m}$  (Figura 27) y tasa de crecimiento promedio de  $1.6 \pm 0. \%/día$  (Tabla 12).

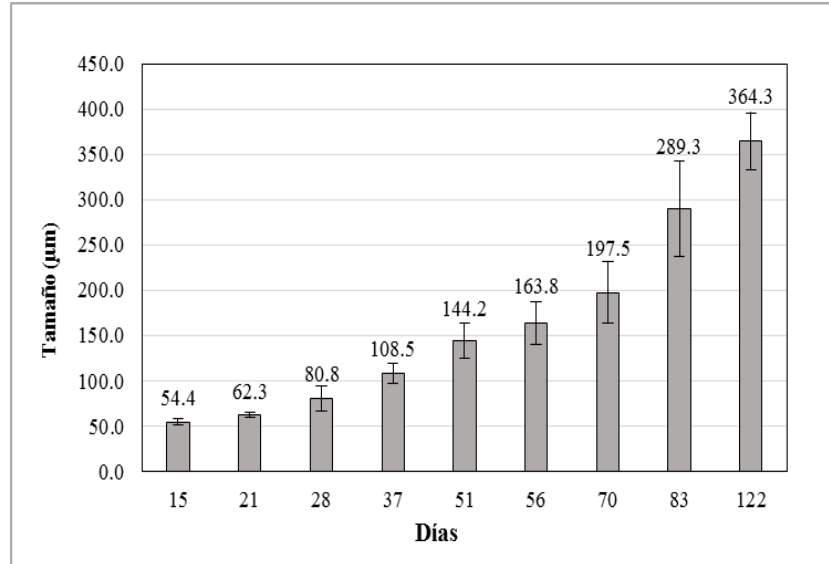


**Figura 25.** Crecimiento de plántulas *C. chamissoi* de Paiján a partir carposporas.





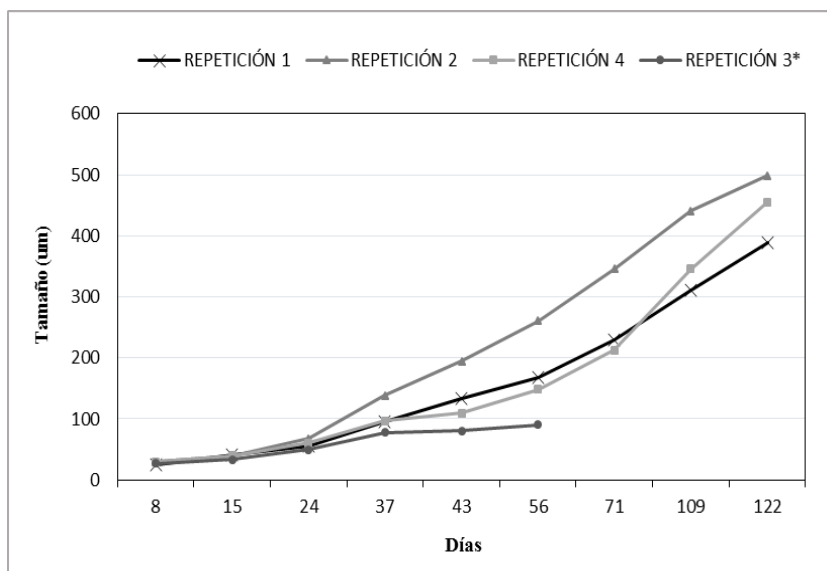
**Figura 26.** Desarrollo de *C. chamissoi* de Paiján a partir de carposporas sobre cuerdas de polipropileno



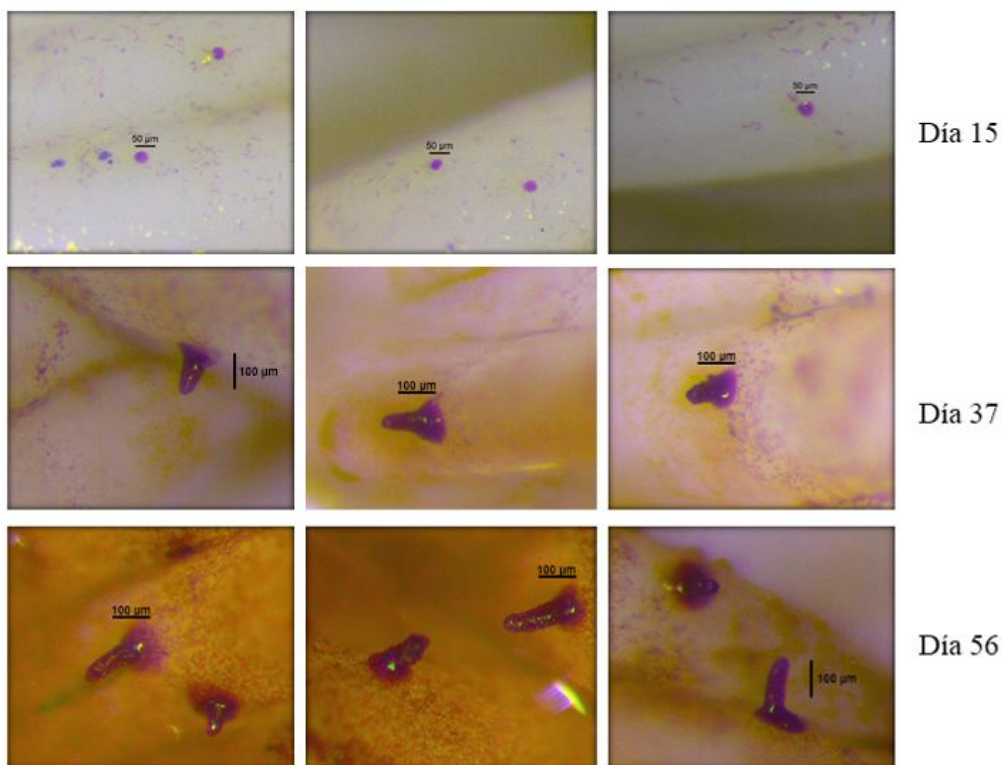
**Figura 27.** Talla promedio de plántulas de *C. chamissoi* de Paiján a lo largo del cultivo a partir de carposporas. El cultivo tuvo una duración de 122 días.

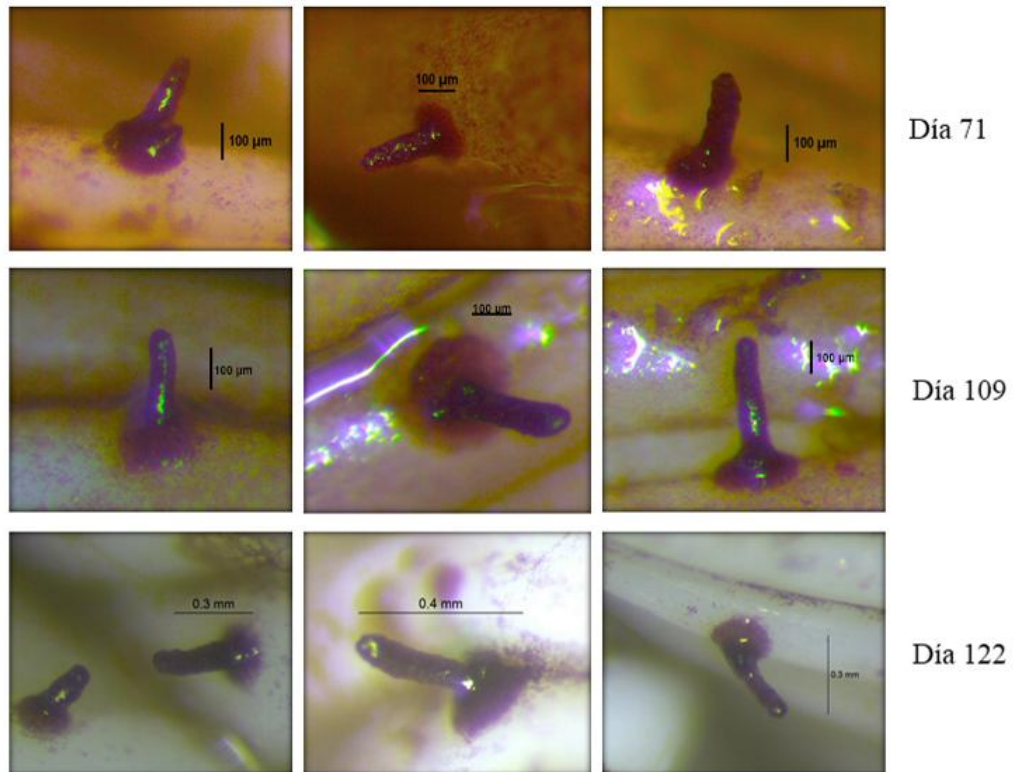
Para Mendieta, el crecimiento fue variable entre las repeticiones de estudio (Figura 28 y 29). La repetición 3 (R3) fue retirada del análisis debido a que el sistema de cultivo presentó problemas con los sistemas de aireación, lo que ocasionó que las condiciones de

cultivo no sean similares con las demás repeticiones. Finalmente se obtuvo una talla final de  $447.6 \pm 55.4 \mu\text{m}$  (Figura 30) y tasa de crecimiento promedio de 2.3 %/día (Tabla 12).

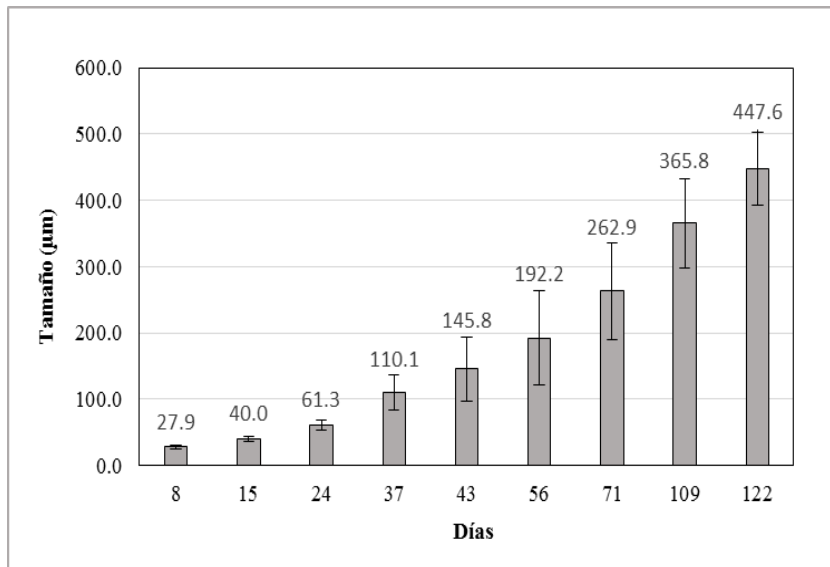


**Figura 28.** Crecimiento de plántulas *C. chamissoi* de Mendieta a partir carposporas. La R3 fue retirada del estudio al día 56.





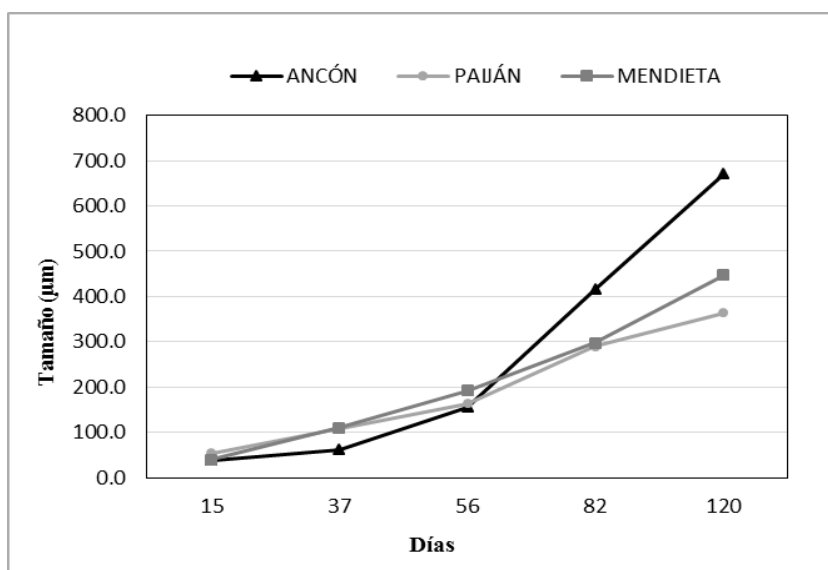
**Figura 29.** Desarrollo de *C. chamissoi* de Mendieta a partir de carposporas sobre cuerdas de polipropileno.



**Figura 30.** Talla promedio de plántulas de *C. chamissoi* de Mendieta a lo largo del cultivo a partir de carposporas. El cultivo tuvo una duración de 122 días.

El análisis comparativo del crecimiento promedio entre las localidades de estudio mostró que los individuos de Ancón presentaron los valores más altos de crecimiento con una talla

final promedio de 671.1  $\mu\text{m}$  seguido de Mendieta con 447.6  $\mu\text{m}$  y finalmente Paiján con 364.3  $\mu\text{m}$  (Figura 31)



**Figura 31.** Crecimiento promedio de *C. chamissoi* de las tres localidades a lo largo del cultivo

#### d. Supervivencia

La supervivencia mostró un valor muy uniforme entre las 3 poblaciones de estudio. Para Ancón el número de plántulas al final del experimento fue  $2833 \pm 1590$  en un área de  $9000 \text{ mm}^2$  con una relación de  $31 \pm 17$  talos/ $\text{cm}^2$  (Tabla 13). Este valor representa un  $4.2 \pm 1 \%$  del total de carposporas asentadas al inicio del experimento en los sustratos ( $67500 \pm 11620$ ) y solo un  $0.2 \%$  del total de carposporas que se inocularon en los sistemas de cultivo al inicio del experimento ( $1\ 342\ 625$ ).

**Tabla 13.** Supervivencia de plántulas de *C. chamissoi* de un cultivo a partir de carposporas de Ancón.

	Densidad del "caldo" (Dc)	Carposporas asentadas inicialmente	Número de plántulas al final del experimento	Supervivencia (%)
R1	1 750 000	81000*	-	-
R2	836 500	54000	2550	4.7
R3	1 500 000	72000	3825	5.3
R4	1 284 000	63000	2125	3.4
<b>PROMEDIO</b>	<b>1 342 625</b>	<b>67500 <math>\pm</math> 11620</b>	<b>2833 <math>\pm</math> 1590</b>	<b>4.2 <math>\pm</math> 1</b>

\*Para calcular el valor promedio de supervivencia no se consideró este valor. Siendo solo calculado a partir del PR promedio de R2, R3 y R4= 63000 dado que R1 fue retirado del experimento.

En Paiján el número promedio de plántulas al final del experimento fue  $1680 \pm 381$  en un área de  $9000 \text{ mm}^2$  con una relación de  $18 \pm 4$  talos/cm<sup>2</sup> (Tabla 14). Este valor representa un  $4 \pm 1.5\%$  del total de carposporas asentadas al inicio del experimento en los sustratos ( $40500 \pm 5196$ ) y solo un  $0.2\%$  del total de carposporas que se inocularon en los sistemas de cultivo al inicio del experimento ( $795125$ ).

**Tabla 14.** Supervivencia de plántulas de *C. chamissoi* de un cultivo a partir de carposporas de Paiján.

	Densidad del "caldo" (Dc)	Carposporas asentadas inicialmente	Número de plántulas al final del experimento	Supervivencia (%)
R1	727 500	36000	1920	5.3
R2	1 004 000	45000	1280	2.8
R3	752 500	45000	1440	3.2
R4	696 500	36000	2080	5.7
PROMEDIO	795 125	$40500 \pm 5196$	$1680 \pm 381$	$4.15 \pm 1.5$

Finalmente, para Mendieta el número promedio de plántulas al final del experimento fue  $4463 \pm 766$  en un área de  $9000 \text{ mm}^2$  con una relación de  $49 \pm 8$  talos/cm<sup>2</sup> (Tabla 15). Este valor representa un  $9\%$  del total de carposporas asentadas al inicio del experimento en los sustratos ( $54000 \pm 14697$ ) y solo un  $0.3\%$  del total de carposporas que se inocularon en los sistemas de cultivo al inicio del experimento ( $1\ 134\ 500$ ).

**Tabla 15.** Supervivencia de plántulas de *C. chamissoi* de un cultivo a partir de carposporas de Mendieta.

	Densidad del "caldo" (Dc)	Carposporas asentadas inicialmente	Número de plántulas al final del experimento	Supervivencia (%)
R1	1 139 500	54000	4675	8.6
R2	965 000	54000	5100	9.4
R3	1 384 500	72000*	-	-
R4	1 049 000	36000	3613	1.0
PROMEDIO	1 134 500	$54000 \pm 14697$	$4463 \pm 766$	$9.0 \pm 0.7$

\*Para calcular el valor promedio de supervivencia no se consideró este valor. Siendo solo calculado a partir del PR promedio de R1, R2 y R4= 48000 dado que R3 fue retirado del experimento. Entonces  $4463/48000 \times 100 = 9\%$  de supervivencia promedio.

El análisis comparativo del número de plántulas al final del experimento entre las poblaciones de estudio demostró la existencia de diferencias entre ellos mientras que la supervivencia (%) no presentó diferencias significativas entre las poblaciones de estudio (Tabla 16).



**Tabla 16.** Número final de plántulas sobrevivientes y supervivencia de *C. chamissoi* de las tres poblaciones de estudio.

	<b>Ancón</b>	<b>Paiján</b>	<b>Mendieta</b>
Plántulas sobrevivientes al final del experimento	2833 ± 1590 <b>(b)</b>	1680 ± 381 <b>(c)</b>	4463 ± 766 <b>(a)</b>
Plántulas sobrevivientes/cm <sup>2</sup>	31 ± 17	18 ± 4	49 ± 8
Supervivencia (%)	4.2 ± 1 <b>(a)</b>	4 ± 1.5 <b>(a)</b>	9 ± 0.7 <b>(a)</b>

\*La existencia de diferencias significativas fue determinada mediante la prueba de Kruskal - Wallis ( $\alpha=0.05$ )

#### 4.1.4. Cultivo vegetativo por formación de discos de fijación secundaria (DFS)

##### a. Número de DFS y Supervivencia

El número de DFS por valva al final del cultivo fue similar entre las poblaciones de estudio (No se observaron diferencias significativas) (Tabla 18). Así mismo, las condiciones de cultivo de todos los tratamientos fueron similares al cultivo por carposporas. Sin embargo, la duración del cultivo no fue el mismo entre los tratamientos debido a problemas logísticos.



**Figura 32.** Discos de fijación secundaria de *C. chamissoi* de Mendieta a los 29 días de cultivo. **a.** Vista lateral de un DFS con dos pequeños brotes. **b.** vista frontal de un DFS con 4 pequeños brotes creciendo. **c.** vista frontal de una “costra” y su brote central formada por la fijación vegetativa de un ápice de una planta adulta

En Ancón, al final del experimento el número promedio de DFS por valva al final del experimento (día 121) fue de  $5.8 \pm 1.9$  y el número de valvas que presentaron DFS fue 5 (Tabla 17). Desde que el experimento se inició con la fijación de los individuos de *C.*

*chamissoi* sobre las valvas de *A. purpuratus* mediante ligas, se observó necrosamiento y despigmentación de las algas a 4 días del inicio en la mayoría de las repeticiones (Figura 33). Para el día que las algas fueron retiradas de las valvas (Después de 20 días de pre cultivo) había valvas que no se encontraban en buenas condiciones y no evidenciaron formación de DFS (R5 y R6 particularmente), dichas valvas fueron retiradas del experimento. La repetición 8 presentó DFS formados al día cero sin embargo al día 30 la mortalidad fue de 100% por lo que tuvo que ser retirada de los análisis posteriores.

**Tabla 17.** Número de discos de fijación secundaria (DFS) de *C. chamissoi* por valva presentes en Ancón. Las repeticiones R5 y R6 fueron retiradas al inicio del cultivo.

Valvas	Día (s)										Supervivencia (%)
	0	22	31	41	53	67	72	85	101	121	
<b>R 1</b>	13	9	8	8	8	8	8	8	8	8	61
<b>R 2</b>	15	10	10	7	7	7	7	7	7	7	47
<b>R 3</b>	10	5	5	5	5	5	5	5	5	5	50
<b>R 4</b>	10	7	7	6	6	6	6	6	6	6	60
<b>R 7</b>	6	4	4	3	3	3	3	3	3	3	50
<b>R 8*</b>	4	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>PROMEDIO</b>	9.7	6.2	6.8	5.8	5.8	5.80	5.8	5.8	5.8	5.8	53

\*Para calcular el valor promedio de supervivencia no se consideró esta repetición. El número promedio de DFS al día cero a partir del promedio de R1, R2, R3, R4 y R7 = 10.8. Dado que R8 fue retirado del experimento al día 31. Entonces  $5.8/10.8 \times 100 = 53\%$  de supervivencia promedio



**Figura 33.** Necrosamiento y despigmentación de *C. chamissoi* en un cultivo vegetativo a los cuatro días.



En Paiján, el número promedio de DFS al final del experimento (día 120) fue de  $4.8 \pm 2.2$  y el número de valvas que presentaron DFS al final del experimento fue 5 (Tabla 18). Se observó necrosamiento y despigmentación de algunas algas a la semana de su fijación sobre las valvas; siendo este problema más evidente en la repetición 8 (R8) la cual tuvo que ser retirada del experimento. En muchos casos, debido al reducido tamaño de las algas vegetativas de esta población, se tuvo que fijar dos individuos por valva para cubrir toda su superficie (R1 y R2)

**Tabla 18.** Número de discos de fijación secundaria (DFS) de *C. chamissoi* por valva presentes de Paiján.

La repetición 8 (R8) fue retirada del experimento al inicio del cultivo y posteriormente la R7.

Valvas	Día (s)									Supervivencia (%)
	0	7	14	21	29	41	54	76	120	
<b>R 1*</b>	2	2	1	1	-	-	-	-	-	-
<b>R 2</b>	5	4	4	4	4	4	4	4	4	80
<b>R 3</b>	11	9	9	9	9	8	8	8	8	73
<b>R 4</b>	8	6	6	4	4	4	3	3	3	40
<b>R 5</b>	9	9	9	7	7	6	6	6	6	66
<b>R 6</b>	5	4	4	4	4	3	3	3	3	60
<b>R 7*</b>	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-
<b>PROMEDIO</b>	5.9	5.0	4.9	4.3	4.8	4.3	4.8	4.8	4.8	63

\*Para calcular el valor promedio de supervivencia no se consideraron estas repeticiones. El número promedio de DFS al día cero a partir del promedio de R2, R3, R4, R5 y R6 = 7.6. Dado que R1 y R7 fueron retirados del experimento. Entonces  $4.8/7.6 \times 100 = 63\%$  de supervivencia promedio

En Mendieta, el número promedio de DFS al final del experimento (día 113) fue de  $9.1 \pm 7.8$  y todas las 8 valvas presentaron DFS (Tabla 19). Se observó necrosamiento y despigmentación de algunas algas a los 5 días de su fijación sobre las valvas. A pesar de ello, todas las valvas formaron DFS para el día cero. Las algas de la repetición 5 y 7 (R5 y R6 respectivamente) presentaron mayor necrosamiento y despigmentación, sin embargo, evidenciaron la formación de DFS (Tabla 17)

**Tabla 19.** Número de discos de fijación secundaria (DFS) de *C. chamissoi* por valva presentes de Mendieta.

Valvas	Día (s)								Supervivencia (%)
	0	7	15	22	26	62	106	117	
<b>R 1</b>	11	10	7	5	5	5	5	5	45
<b>R 2</b>	35	34	31	28	28	28	27	27	77
<b>R 3</b>	16	16	14	14	13	12	9	9	56
<b>R 4</b>	12	9	9	9	9	9	9	9	75
<b>R 5</b>	5	5	5	4	4	4	1	1	20
<b>R 6</b>	10	9	9	9	9	9	9	9	90
<b>R 7</b>	7	6	6	5	5	5	5	5	71
<b>R 8</b>	11	10	8	8	8	8	8	8	73
<b>PROMEDIO</b>	13.4	12.4	11.1	10.3	10.1	10	9.1	9.1	63.4

Como se señaló anteriormente, no se pudo demostrar diferencias significativas entre el número de DFS y el porcentaje de supervivencia al final del cultivo en las poblaciones de estudio con la prueba estadística de Kruskal - Wallis ( $\alpha=0.05$ ) (Tabla 20)

**Tabla 20.** Análisis comparativo del número de discos de fijación secundaria (DFS) y supervivencia entre las tres poblaciones de estudio

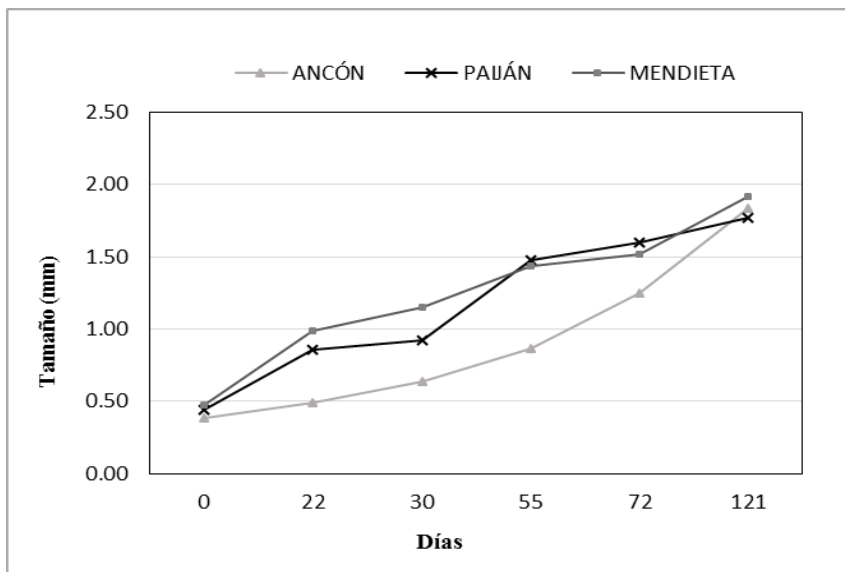
	Ancón	Paiján	Mendieta
Número de DFS al inicio del experimento	9.7 ± 4.1	5.9 ± 3.7	13.4 ± 9.3
Numero de DFS al final del experimento	5.8 ± 1.9 (a)	4.8 ± 2.2 (a)	9.1 ± 7.8 (a)
Supervivencia (%)	53 (a)	63 (a)	63.4 (a)

La significancia estadística se determinó mediante la prueba de Kruskal - Wallis ( $\alpha=0.05$ )

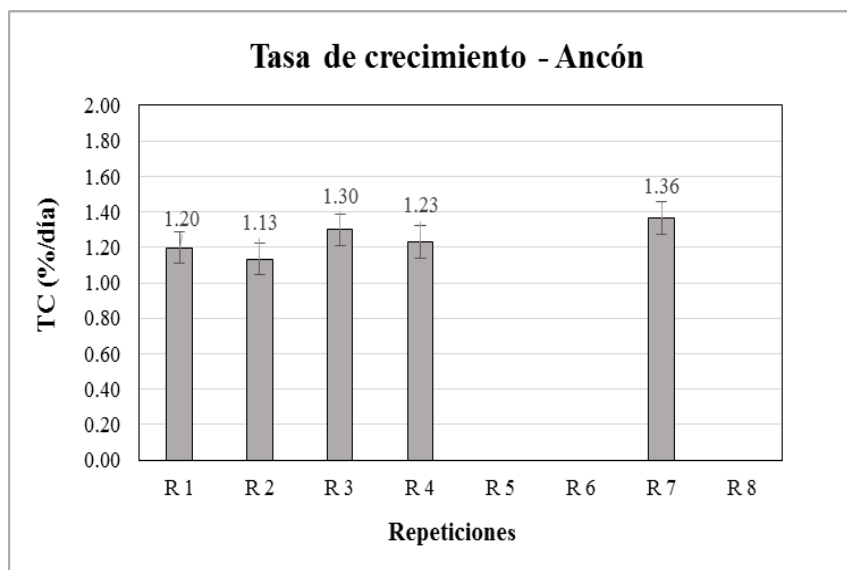
#### b. Crecimiento y desarrollo del cultivo

En líneas generales, todas las poblaciones mostraron un crecimiento de los DFS parejo, observándose pequeñas diferencias entre los DFS de una misma valva (provenientes de un mismo individuo) y entre diferentes valvas (diferentes individuos). Esto se vio reflejado en el hecho que no se observaron diferencias significativas en el tamaño final y la tasa de crecimiento (TC) de los DFS de las tres poblaciones al final del experimento (Tabla 21).

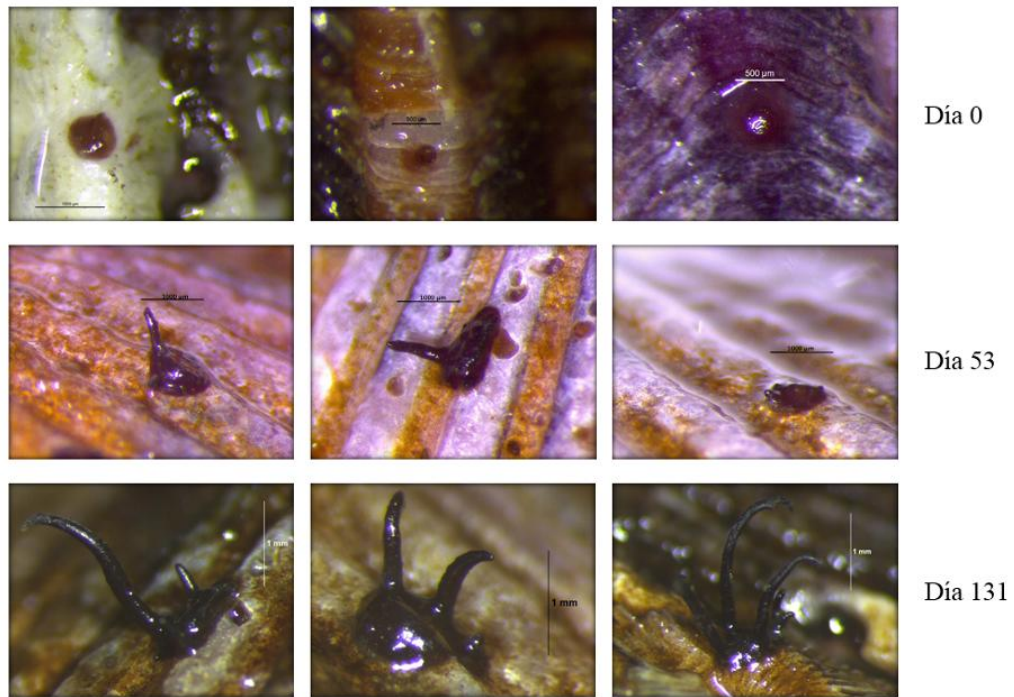
Para Ancón, el crecimiento promedio fue uniforme a lo largo del tiempo (Figura 34). El cultivo inicio con un tamaño promedio de  $0.39 \pm 0.11$  mm y finalizó con un tamaño promedio de  $1.84 \pm 0.23$  mm con una tasa de crecimiento (TC) promedio de  $1.24 \pm 0.09$  %/día (Tabla 21). Se pudo observar ligeras diferencias en el patrón de crecimiento entre los DFS de las distintas valvas (Figura 34). Sin embargo, a pesar de ello, el crecimiento promedio fue muy similar.



**Figura 34.** Crecimiento promedio de discos de fijación secundaria (DFS) a partir de *C. chamissoi* a lo largo de un cultivo vegetativo.

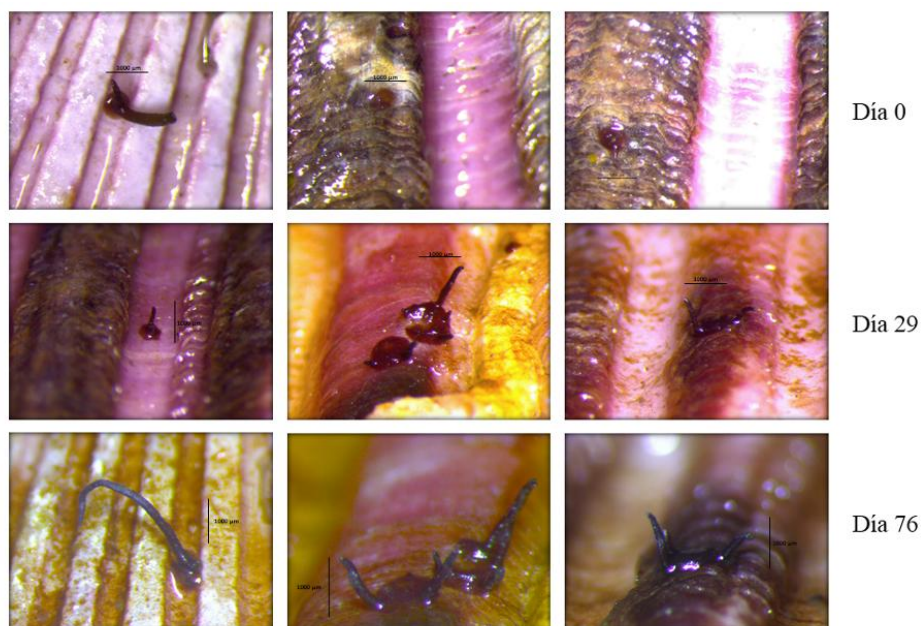


**Figura 35.** Tasa de crecimiento de los discos de fijación secundaria (DFS) de Ancón en un cultivo vegetativo



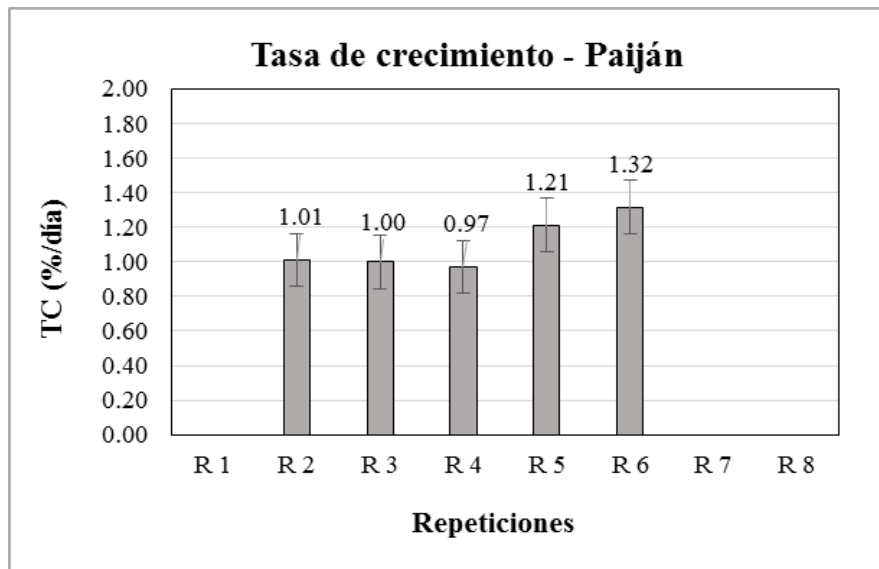
**Figura 36.** Desarrollo de discos de fijación secundaria (DFS) de *C. chamissoi* de Ancón en un cultivo vegetativo.

En Paiján el crecimiento promedio fue uniforme pero menor a Ancón (Figura 34). El cultivo inicio con un tamaño promedio de  $0.44 \pm 0.27$  mm y finalizó con un tamaño promedio de  $1.77 \pm 0.99$  mm con una TC promedio de  $1.10 \pm 0.58$  %/día (Tabla 21). Se pudo identificar diferencias entre los valores de la TC entre los DFS de las distintas valvas (Figura 38). Sin embargo, el crecimiento promedio fue muy similar.





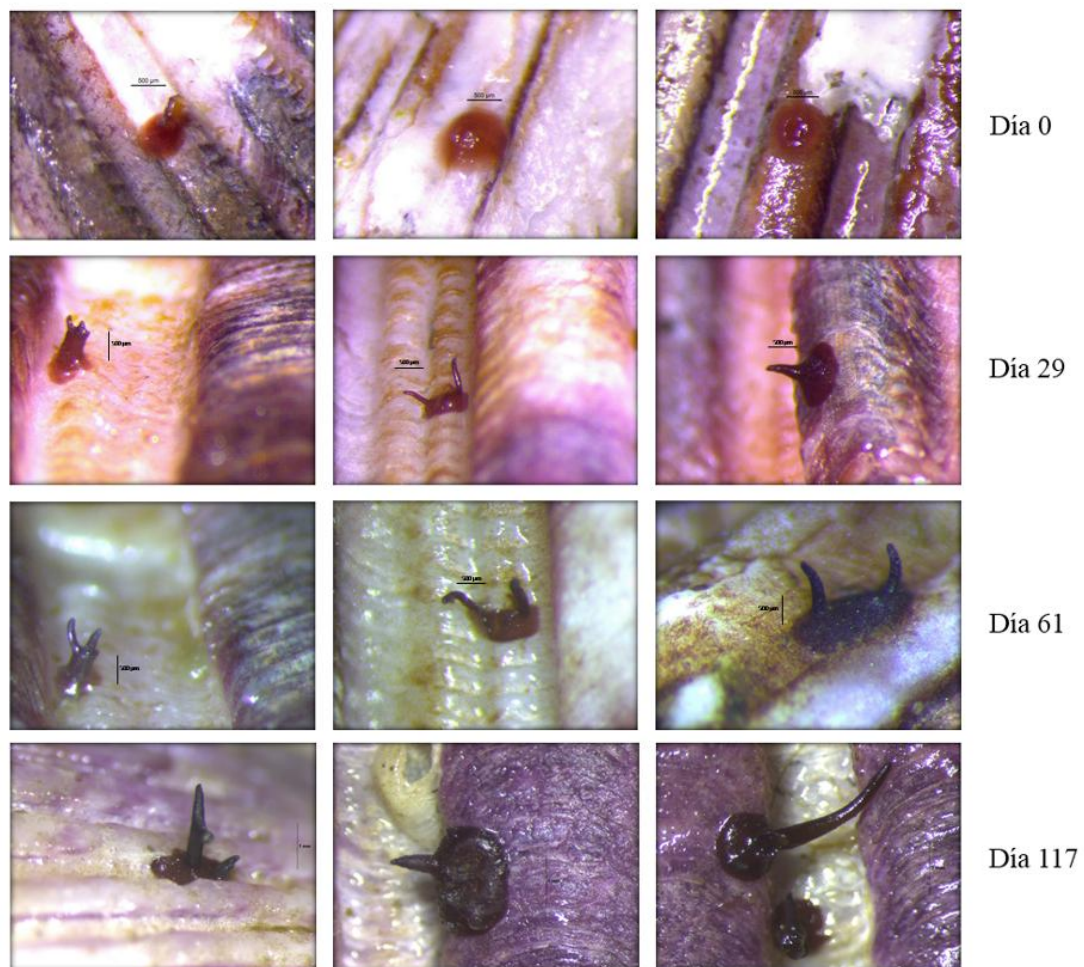
**Figura 37.** Desarrollo de discos de fijación secundaria (DFS) de *C. chamissoi* de Paiján en un cultivo vegetativo.



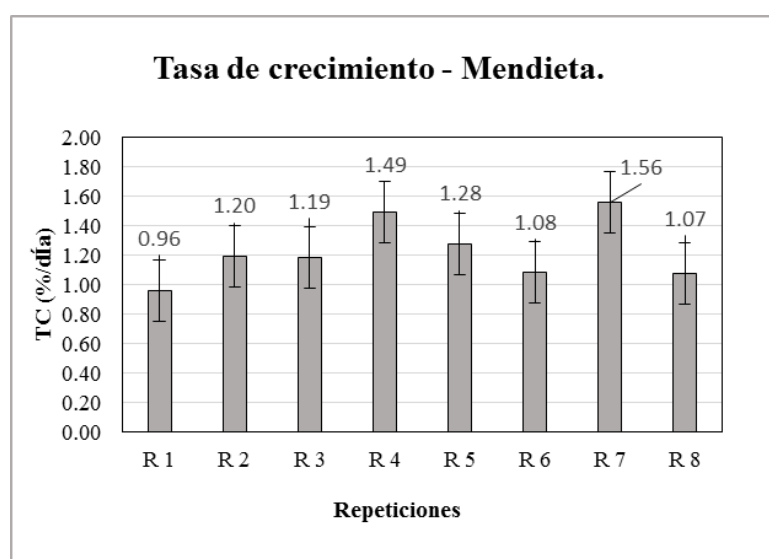
**Figura 38.** Tasa de crecimiento de los discos de fijación secundaria (DFS) de Paiján en un cultivo vegetativo.

Mendieta tuvo un crecimiento promedio uniforme muy parecido a Ancón (Figura 39 y 40). El cultivo inicio con un tamaño promedio de  $0.47 \pm 0.12$  mm y finalizó con un tamaño promedio de  $1.92 \pm 0.18$  mm con una TC promedio de  $1.23 \pm 0.21$  %/día (Tabla 21). También se pudo identificar diferencias entre los valores de la TC entre las repeticiones (Figura 40), sin embargo, a pesar de ello, el crecimiento fue similar.





**Figura 39.** Desarrollo de discos de fijación secundaria (DFS) de *C. chamissoi* de Mendieta en un cultivo vegetativo.



**Figura 40.** Tasa de crecimiento de los discos de fijación secundaria (DFS) de Mendieta en un cultivo vegetativo.

**Tabla 21.** Análisis comparativo del tamaño final y tasa de crecimiento promedio de los discos de fijación secundaria (DFS) de las tres poblaciones de estudio.

		LOCALIDAD		
		Ancón	Paiján	Mendieta
Tamaño (mm)	Inicial	0.39 ± 0.11	0.44 ± 0.27	0.47 ± 0.12
	Final	1.84 ± 0.23 (a)	1.77 ± 0.99 (a)	1.92 ± 0.18 (a)
Tasa de crecimiento (%/día)		1.24 ± 0.09 (a)	1.10 ± 0.58 (a)	1.23 ± 0.21 (a)

\*La significancia estadística fue determinada con un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con  $\alpha=0.05$

## 4.2. Discusión

Los resultados evidencian que es viable el cultivo de *C. chamissoi* a partir de carposporas y mediante formación de discos de fijación secundaria (DFS) en las tres poblaciones de estudio dado su elevado potencial reproductivo y su alta capacidad de formación de DFS.

Previo al desarrollo de los procedimientos de cultivo se realizó una caracterización morfológica de especímenes provenientes de las 3 localidades de estudio. El presente análisis coincidió con las descripciones realizadas por Howe *et al.* (1964), Acleto (1986) y Calderón *et al.* (2010) para la especie *C. chamissoi* determinándose ligeras diferencias morfológicas del material proveniente de las 3 localidades (Tabla 2). Estas diferencias pueden deberse a que la especie *C. chamissoi* como todos las demás del genero *Chondracanthus* presenta una plasticidad morfológica ampliamente documentada por diversos autores (Howe *et al.*, 1964; Acleto, 1986; Ramírez & Santelices, 1991; Hommersand *et al.*, 1994, Pariona, 2004; Bulboa *et al.*, 2008; Calderón *et al.*, 2010 y Yang *et al.*, 2015).

De las tres especies, la población de Paiján presentó valores muy particulares de peso, grosor, número de cistocarpos por individuo (Tabla 2 y 3) y con el valor más bajo de PR (12 869 573 ± 6 053 747) a diferencia de Ancón (353 973 093 ± 101 495 938) y Mendieta (144 576 920 ± 66 824 693). Si estos valores son contrastados con lo obtenido por Alveal (2001) el cual determinó que el PR fue 150 000 000 y un promedio de carposporas por cistocarpo de 35000 a 45000; solo Paiján resultaría significativamente menor con su bajo valor de PR y con solo 5 – 15000 carposporas por cistocarpo. El número de carposporas

liberadas en el “caldo” (Dc) para Paiján fue el más bajo (Tabla 7), pero no con la misma proporción al PR obtenido para las tres poblaciones: el Dc para Paiján fue  $795125 \pm 141121$  carposporas/caldo con una relación de 174 753 carposporas liberadas por gramo de alga fértil mientras el Dc de Mendieta fue  $1\ 134\ 500 \pm 181\ 259$  con una relación de 202 586 carposporas liberadas por gramo de alga fértil y la Dc de Ancón fue  $1\ 342\ 625 \pm 387436$  con una relación de 297 041 carposporas liberadas por gramo de alga fértil. Efectivamente, las carposporas liberadas en el “caldo” o Dc de Paiján representó un 6.18% de su PR un porcentaje mucho más alto que los observados en Mendieta (0.7% de su PR) y Ancón (0.38% de su PR). Esto puede estar relacionado a los factores estresantes que se utilizaron para inducir a la esporulación entre las tres poblaciones de estudio. En la presente investigación para inducir la liberación de carposporas se combinaron tres parámetros abióticos: temperatura, salinidad (desecamiento parcial) y luz (fotoperiodo); lo cual influyó a los individuos de las tres localidades estudiadas; sin embargo, no bajo la misma magnitud. Existe evidencia que sugieren que la diferenciación y liberación de esporas son controladas por los factores ambientales (Santelices, 1990) por lo que es de esperarse que se exhiban patrones reproductivos diferenciales en respuesta a las condiciones ambientales del medio que se desarrolla. Otro de los factores que ha podido afectar la Dc fue el tiempo de traslado el cual no fue el mismo para las tres poblaciones: Ancón (3 horas), Mendieta (12 horas) y Paiján (14 horas). Esto se debió a las necesidades logísticas de su traslado desde los puntos distantes de colecta. Tanto las algas de Mendieta y Paiján han tolerado el tiempo de traslado (evidenciado por la liberación relativamente alta de carposporas), sin embargo, este tiempo de traslado afectó la viabilidad del proceso de liberación de esporas en ambas poblaciones al estar mantenidos más horas en condiciones estresantes de traslado. Probablemente si sus tiempos de traslado hubieran sido menores sus valores de Dc hubieran sido más altos; esta es una afirmación que a la fecha no se podrá determinar con certeza. Por otro lado, si bien es cierto que los individuos de Ancón tuvieron el menor tiempo de traslado, presentaban cierto grado de contaminación (arenilla, conchuelas, otras algas filamentosas sobre toda la superficie de los talos) mucho mayor que los observados en Mendieta y Paiján (casi no se evidenció epifitismo a simple vista). Esta característica de las algas de Ancón ocasionó que tuvieran que soportar varios procedimientos de limpieza, siendo este un factor estresante que ha influido en la liberación de carposporas dado que, era de esperarse que los individuos de Ancón al presentar más cistocarpos por gramo y un alto valor del PR tengan un valor de Dc más alto



que el resto, sin embargo su valor de Dc ha sido solo ligeramente mayor que Mendieta (sin presentar diferencias significativas) (Tabla 7). Probablemente ese problema del epifitismo de los individuos fértiles esté asociado con el hecho que la pradera de Ancón se encuentra muy cerca de asentamientos urbanos presentando cierto grado de contaminación, a diferencia de Mendieta que se encuentra en la Reserva Nacional de Paracas y la pradera de Paiján que se encuentra muy alejada de asentamientos humanos. En líneas generales, este procedimiento de elaboración de “caldos” de carposporas ha permitido obtener un alto número de esporas con poco material fértil brindando una metodología controlada de esta etapa que fue muy útil para la siguiente etapa del cultivo (Asentamiento).

Se pudo comprobar la ocurrencia de buen asentamiento en todas las poblaciones de estudio, las cuales presentaron diferencias significativas entre ellos: El número de carposporas asentadas fue mayor en Ancón ( $67500 \pm 11620$ ), seguido de Mendieta ( $54000 \pm 14697$ ) y finalmente Paiján ( $40500 \pm 5196$ ) con una relación de 750 carposporas/cm<sup>2</sup>, 600 carposporas/cm<sup>2</sup> y 450 carposporas/cm<sup>2</sup> respectivamente (Tabla 11). Sin embargo, el porcentaje de asentamiento fue similar entre las tres poblaciones y significó en promedio casi el 5 % de su respectiva cantidad de carposporas liberadas en el “caldo” (Dc). Este bajo asentamiento en todas las poblaciones ha mostrado la alta tasa de mortalidad de esta etapa que ha sido reportada por diversos autores (Santelices, 1990; Glenn *et al.*, 1995; Ávila *et al.*, 1999; Maggs & Callow, 2003; Bulboa, 2006). Esto pudo ser causado debido al ataque de virus u otros agentes patógenos, al pastoreo de los protistas e invertebrados, etc. dado que el cultivo no se realizó en condiciones controladas de laboratorio (el agua utilizada en el sistema de cultivo solo provenía de agua filtrada mecánicamente). Diversos autores han señalado diversos factores que influyen en el asentamiento de las esporas entre las cuales destacan la naturaleza del sustrato, las interacciones bióticas y las variables fisicoquímicas (Lobban & Harrison, 1994; Agrawal, 2009; Maggs & Callow, 2003)

El sustrato tiene un efecto importante en el asentamiento de esporas y su influencia puede ser física (topográficos, físico-químicos), biológica (biofilm, epifitas), química (compuestos inhibidores de atracción o difusibles) e hidrodinámica ya se sabe que los sustratos rugosos proporcionará una mayor área de superficie para la fijación y protección de la espora de la desecación, la acción del oleaje y la depredación (Maggs & Callow, 2003). La adherencia de las esporas ocurre más fácilmente en superficies hidrofóbicas,

debido a que permite la exclusión de las moléculas de agua desde la superficie de adhesión de las esporas y el sustrato (Lobban & Harrison, 1990, Maggs & Callow, 2003). Sin embargo, la presencia inevitable de biopelículas microbianas (Biofilm) (Anexo 40, 41 y 42) modera el asentamiento de esporas. Maggs & Callow (2003) señalan que la presencia de biopelículas bacterianas influye en el asentamiento de esporas ya que alteran la topografía de la superficie, así como el cambio de las propiedades físico-químicas del sustrato mediante la alteración de su humectabilidad (hidrofobicidad) o mediante la exposición de diferentes dominios de superficie asociados con sustancias poliméricas extracelulares (EPS). Las bacterias *Pseudoalteromonas*, *Alteromonas* o *Pseudomonas* forman biopelículas en diferentes ambientes marinos (Biofilms) y producen una gran variedad de compuestos de bajo y de alto peso molecular entre las que se incluyen proteínas tóxicas, polímeros poli-aniónicos, alcaloides, péptidos cíclicos sustituidos, y una variedad de compuestos sustituidos con bromo los cuales tienen propiedades “anti-fouling” y diversas actividades farmacéuticamente pertinentes (Agrawal 2009), las cuales pueden inhibir el asentamiento de esporas (Maggs & Callow, 2003). Diversos trabajos han demostrado la actividad inhibitoria de estas bacterias en el asentamiento y germinación de varias esporas de algas incluyendo *Ulva lactuca* y *Polysiphonia* (Egan *et al.*, 2000; Silva-Aciares & Riquelme, 2008). Agrawal (2009) señala que las diatomeas asentadas en el sustrato pueden evitar el asentamiento y germinación de esporas tal y como se observó en *Monostroma* y *Fucus spiralis*. Sin embargo, Lobban & Harrison (1990) contrastan lo señalado anteriormente al decir que el recubrimiento del sustrato por un biofilm de bacterias y su mucílago asociado pueden aumentar la energía superficial y hacer la superficie mucho más adecuada para el asentamiento de macroalgas. No se puede tener información concreta de la magnitud del efecto real del biofilm en el asentamiento de *C. chamissoi*, dado lo complicado de la caracterización de una capa de biofilm en condiciones de cultivo, sin embargo, ha influido notablemente en el proceso de asentamiento, germinación y crecimiento en la presente investigación.

El proceso de cultivo de la presente investigación no tuvo ninguna etapa en condiciones controladas (No se utilizó agua esterilizada, ni se agregó  $\text{GeO}_2$  ni penicilina potásica para el control de diatomeas y cianobacterias respectivamente) ni siquiera para la etapa de asentamiento y germinación. Esto pudo propiciar la colonización de los sustratos de cultivo (bastidores con cuerdas de polipropileno tratadas con Bicarbonato de Sodio) con diversos

microorganismos presentes naturalmente en el medio marino los cuales compitieron con las esporas por el sustrato e inhibieron su crecimiento y desarrollo. Por otro lado, se realizó un tratamiento previo a las cuerdas de cultivo con bicarbonato de sodio debido a que ciertos estudios han señalado la afinidad del asentamiento de las esporas en sustratos naturales (piedra, conchas y otros sustratos calcáreos. (Macaya, 2001; Pariona, 2004). Sin embargo, no se ha podido determinar si verdaderamente la existencia de un beneficio en tratar previamente las cuerdas con bicarbonato; pruebas de laboratorio preliminares determinaron que ambos sustratos (con y sin tratamiento con bicarbonato) presentaron buen asentamiento.

A diferencia de los experimentos de cultivo de *C. chamissoi* en condiciones controladas de laboratorio como los trabajos de Ávila, *et al.*, 2001; Macaya, 2001 y Bulboa, 2006, el objetivo de no tratar previamente el agua de cultivo fue adaptar a los individuos de cultivo las condiciones ambientales de su entorno con la finalidad que puedan sobrevivir al momento de su traslado al mar dado que los individuos que crecen bajo condiciones de cultivo muy controladas no desarrollan resistencia a las condiciones naturales de su entorno en el ambiente marino, las cuales muchas veces no son constantes y tampoco óptimas (competencia por la luz y sustrato, epífitos, diversos tipos de estrés, condiciones ambientales variables, etc.). No poder escalar el cultivo de laboratorio hacia el mar ha sido uno de los principales inconvenientes a lo largo de diversos proyectos de cultivo. En este caso en particular no se pudo realizar tratamiento alguno al agua de mar en la etapa de asentamiento (más que solo filtrado) debido a la imposibilidad logística. Por lo tanto, las altas mortalidades observadas en las etapas iniciales de cultivo han estado influenciadas por el cambio de condiciones fisicoquímicas del agua de mar.

El problema del Biofilm fue más crítico para la población de Ancón desde los inicios del cultivo hasta las etapas finales pudiéndose deber esto al grado de contaminación y epifitismo elevado que presentaron los individuos fértiles de esta pradera que a pesar de los procedimientos de limpieza, muchos microorganismos han podido ser transmitidos con el “caldo” de carposporas hacia los bastidores. A pesar de todo ello, los especímenes de Ancón presentaron los valores más altos de asentamiento; probablemente debido a que las condiciones de cultivo se parecían mucho más a sus condiciones naturales ya que la pradera natural de *C. chamissoi* de Ancón se encuentra a solo 33 km aprox. de la toma de

agua del laboratorio (IMARPE) a diferencia de los 240 km de distancia con la pradera de Mendieta (Sur) y 540 km con la pradera de Paiján (norte) los cuales tienen condiciones fisicoquímicas diferentes. A pesar de todo ello, si al valor más bajo de asentamiento observado en la presente investigación (en la R1 y R4 de Paiján: 400 carposporas/cm<sup>2</sup>) se contrasta con los valores iniciales de asentamiento observados en el trabajo de Bulboa (2006) de 280±20 carposporas/cm<sup>2</sup> (este valor se obtiene al realizar la traspolación de 80/carposporas por cm a cm<sup>2</sup> considerando que el ancho de la cuerda fue de 3mm) se puede afirmar que se ha obtenido a pesar de las altas mortalidades un asentamiento muy bueno. Si además se agrega el hecho que el presente experimento necesitó 3.3 g de material fértil para esporular en condiciones semi-controladas 1 metro de cuerda de 5 mm, mientras Bulboa (2006) utilizó 2.6 g de material fértil para esporular en condiciones controladas 1 metro de cuerda de 3mm a diferencia de los 20 g de material fértil que se necesitan para esporular 1 metro de cuerda de 5mm en los procesos convencionales de cultivo, se puede señalar que se ha podido obtener un proceso eficiente de asentamiento (con valores mucho más alto que los recomendados por Alveal *et al.* (1995) (100 a 200 esporas asentadas por cm<sup>2</sup>).

El crecimiento y desarrollo de las plántulas en el cultivo a partir de carposporas en condiciones semi controladas ha sido más bajo de lo esperado para 120 días de cultivo en todas las poblaciones de estudio: Las plántulas de Ancón obtuvieron la talla final promedio más alta con 671.1 ± 69.5 µm con una tasa de crecimiento (TC) de 2.4 ± 0.12 %/día, las de Mendieta 447.6 ± 55.3 µm con una TC de 2.3 ± 0.03 %/día y las de Paiján solo 364.3 ± 31.6 µm con una TC de 1.6 ± 0.05 %/día. Si se compara estos resultados con los obtenidos por Alveal (1999) (después de 90 días de cultivo controlado obtuvo talos de 800 µm) y Bulboa (2006) (después de 60 días de cultivo controlado obtuvo talos de 900 µm) los resultados de crecimiento resultan un poco bajos. Así mismo, al final del experimento se obtuvo una supervivencia comprendida entre el 4-9% de las esporas asentadas que se registraron al inicio del experimento (Tabla 16); es decir, para Ancón se obtuvo 31 talos/cm<sup>2</sup>, en Mendieta 49 talos/ cm<sup>2</sup>, y Paiján 18 talos/cm<sup>2</sup>. Si bien es cierto que estos valores no son tan bajos, el simple hecho de solo obtener de un 4 a 9% de supervivencia después de 120 días de cultivo en condiciones semi-controladas indica que este proceso puede ser optimizado. Se puede dar diversos indicios al respecto para explicar el bajo crecimiento y desarrollo de las plántulas: La calidad de agua que se ha utilizado para el

cultivo de *C. chamissoi* no era la más óptima dada la cercanía de la toma de agua con el terminal portuario del Callao y asentamientos humanos. Lamentablemente no se pudo realizar tratamiento alguno al agua de mar más que solamente filtración mecánica. La concentración de nutrientes en el agua de mar a lo largo del experimento estuvo en el rango de: 3:63 – 3.74 mg/L, Nitritos: 0.0297 – 0.042 mg/L y Fosfatos de 0.6 – 1.05 mg/L y fue enriquecido con nutriente comercial a razón de 12 mgN/L, 1,6 mgP/L y 2.92 mgK/L; sin embargo, estos nutrientes en el medio de cultivo no solo han sido requeridos por las pequeñas plántulas de *C. chamissoi*, sino también por los microorganismos que se encuentran en la columna de agua y principalmente por aquellos que formaban parte del “biofilm” sobre los sustratos, los cuales no solo asimilan nutrientes y proliferan, sino también son capaces de secretar sustancias (como resultado de su metabolismo) que pueden impedir el crecimiento de las plántulas. Prueba de ello fue que conforme avanzaban los días de cultivo, se podía observar una proliferación de las capas del “biofilm” las cuales en muchos casos crecían sobre las pequeñas plántulas impidiéndoles la entrada de luz y compitiendo directamente por el sustrato (Anexo 40, 41 y 42). Así mismo, el enriquecimiento del medio de cultivo con nutrientes comerciales junto con la evaporación ocasionaba regularmente variaciones en la salinidad de los sistemas de cultivo (hasta 39 ppm en un par de ocasiones), lo cual fue un problema en forma recurrente y causó ciertos daños permanentes (La R1 de Ancón tuvo que ser retirada del cultivo pues se observó evidente precipitación de sales sobre toda la superficie del bastidor). Esto probablemente estuvo ocasionado por la naturaleza de los sistemas de cultivo al ser envases pequeños (4 litros de capacidad) y no re circulantes, cualquier entrada externa tendría un impacto grande sobre los sistemas de cultivo si además no se le realiza el recambio adecuado. Bulboa *et al.* (2013) demostraron que es más conveniente para la etapa de incubación de las plántulas de *C. chamissoi* sistemas con entrada continua de agua de mar de manera que se obtiene un aprovisionamiento continuo de nutrientes y se disminuye el cambio brusco de las condiciones fisicoquímicas que se observan en un cultivo sin flujo. Sin embargo a pesar que los resultados en todas las poblaciones de estudio fueron relativamente bajos, se evidenció crecimiento en todas las poblaciones corroborando una vez más la rusticidad de la especie y el amplio grado de tolerancia para sobrevivir en condiciones estresantes. Las plántulas de Paiján presentaron el menor tamaño y el valor más bajo de supervivencia probablemente ocasionado por su adaptación a condiciones muy diferentes de su medio natural. Esto se vio evidenciado desde el inicio del cultivo al observar su morfología, el

tamaño pequeño de sus cistocarpos (100 – 300  $\mu\text{m}$ ) y el tamaño pequeño de sus carposporas (12-14  $\mu\text{m}$ ). Boney (1981) señala que el tamaño de la espora está ligado a su contenido de mucílago, el cual puede ser de 2 a 18 veces el tamaño real de la espora. Así mismo, señala que el mucílago puede servir como protección a la desecación, puede estar involucrado en el mantenimiento del equilibrio iónico, como amortiguador físico en ambientes tan hostiles y también como una capa antibiótica. A diferencia de las carposporas de Ancón (18 – 20  $\mu\text{m}$ ) y Mendieta (15 – 20  $\mu\text{m}$ ), las carposporas de Paiján (12 – 14  $\mu\text{m}$ ) probablemente no presenten mucho mucilago debido a que las presiones en su pradera natural no son tan hostiles y/o están adaptados a condiciones tan diferentes (A diferencia de Ancón y Mendieta). Naturalmente, no se puede obtener una conclusión definitiva al respecto, dado que se necesitaría hacer una caracterización del entorno de las tres poblaciones de estudio; pudiendo esto explicar su bajo valor en todas las etapas del cultivo.

Los resultados del cultivo a partir de carposporas muestran la capacidad de *C. chamissoi* de adaptarse a distintas condiciones de cultivo. Para las condiciones experimentales desarrolladas, la población de Mendieta ha presentado la mayor cantidad de plántulas al final del experimento (Tabla 15 y 16) con una alta tasa de crecimiento igual a la de Ancón (Tabla 12), además con una alta rusticidad y elevado Dc (aunque menor que Ancón) por lo que resulta la más conveniente para el cultivo a partir de carposporas según los resultados. Definitivamente la decisión de la elección entre una pradera u otra, dependerá también de las posibilidades logísticas y de los cronogramas de cultivo. Por ejemplo, las algas de Paiján presentaron una morfología muy particular y que va acorde con diversos estándares para su comercialización: Individuos de 10 a 15 cm, sin epifitismo, con buena apariencia, entre otros lo cual podría ser suficiente para alguien interesado en realizar el cultivo de esa población.

En el cultivo vegetativo mediante formación de discos de fijación secundaria (DFS) se pudo evidenciar la formación de estas estructuras (DFS) en todas las poblaciones de estudio, corroborando de esta manera la alta capacidad de *C. chamissoi* de formar DFS (entre 1 a 27 DFS por valva). El análisis morfológico cualitativo evidenció que las algas más adecuadas para el cultivo vegetativo fueron de la población de Mendieta pues presentaron talos erectos de 15 a 20 cm de altura, flexibles y gruesos con abundantes ramas

laterales (Figura 20) que se adaptaban fácilmente a la metodología de cultivo por formación de DFS. Las algas de Paiján por el contrario presentaron individuos achaparrados de 5 a 15 cm de altura, poco flexibles y con abundantes ramificaciones de crecimiento difuso las cuales presentaron ciertas dificultades para cubrir la mayor parte de la superficie de la valva; por último las algas de Ancón también presentaron forma comprimida y achaparrada de 5 a 10 cm pero presentaron talos más gruesos y flexibles, sin embargo su ramas laterales y ramificaciones secundarias presentaron un crecimiento difuso y errático dificultando su posicionamiento sobre toda la valva. En todas las poblaciones se evidencio necrosamiento y despigmentación desde los 4 días de colocado el material fértil en casi todas las repeticiones, por ejemplo, en Ancón de las 8 valvas, 6 evidenciaron la formación de DFS (4 a 13 DFS/valva), en Paiján todas las 8 valvas evidenciaron la formación de DFS (2 a 11 DFS/valva) y Mendieta también presentó formación de DFS en todas sus valvas (5 a 35 DFS/valva). En líneas generales, la despigmentación y necrosamiento que se observó sobre toda la superficie del talo, puede deberse al hecho que todas las algas extraídas fueron directamente puestas sobre las valvas sin considerar un periodo de adaptación a las condiciones de cultivo. Al ser algas adultas necesitan ciertas condiciones especiales que solo su medio natural puede ofrecer (disponibilidad de nutrientes, flujo continuo de agua de mar, etc.), condiciones que difícilmente se pudieron replicar en las condiciones de cultivo. Bulboa *et al.* (2013) mostraron que lo más eficiente para el cultivo vegetativo por formación de DFS fue mantener un flujo continuo de agua de mar sin la necesidad de adicionar nutrientes externos. Lamentablemente debido a un tema de tiempo, no se pudo implementar un periodo de “pre-adaptación” de las algas adultas a las condiciones de cultivo y resultado logísticamente imposible implementar ese sistema de flujo continuo. Por ende, se observó que las algas de Ancón presentaron el mayor problema de necrosamiento probablemente ocasionado por su alto epifitismo (a diferencia de las otras poblaciones); el cual, a pesar de los procedimientos de limpieza, se mantuvieron sobre toda la superficie de las algas pudiendo competir por la luz, nutrientes, sustrato, etc. reduciendo notablemente la capacidad de asimilación de nutrientes y de procesos fotosintéticos. Así mismo, tanto en Ancón y Paiján la morfología achaparrada ocasionó que diversas zonas de las algas (al fijarse con las ligas sobre las valvas) se hayan aplastado sobre otras soportando mayor presión ocasionando que la superficie disponible para la asimilación de nutrientes no fuera uniforme sobre toda la superficie.

Si se comparan los resultados de cultivo de *C. chamissoi* mediante formación de DFS con los mostrados por Bulboa *et al.* (2013) los cuales obtuvieron después de 40 días de cultivo entre  $2 \pm 1$  y  $20 \pm 8$  DFS/valva con un tamaño de  $0,2 \pm 0,03$  y  $3,5 \pm 1,2$  mm con tasas de supervivencia entre  $60 \pm 12$  y 100% con los resultados de la presente investigación al final de los 120 días de cultivo (Ancón presentó 3 a 8 DFS/valva con un tamaño final de 1.91mm y una tasa de supervivencia de 53%, Paiján presentó también de 3 a 8 DFS/valva con un tamaño final de 1.77mm y una tasa de supervivencia de 63%, Mendieta presentó de 1 a 27 DFS/valva con un tamaño final de 1.92 mm y una tasa de supervivencia de 63.4%) se evidencia que los tamaños obtenidos en la presente investigación han sido relativamente bajos (Figura 34). Este bajo crecimiento responde al hecho que las condiciones de cultivo no fueron las más adecuadas para su desarrollo óptimo lo cual ha sido discutido extensamente en párrafos anteriores, ya que esta problemática también es observada en el cultivo a partir de carposporas. Según Alveal (2001) los balances negativos de fotosíntesis, acción drástica de oleaje, falta de nutrientes, pueden sustentar la existencia de las costras de *C. chamissoi* a lo largo del tiempo dado que los discos son más fuertes que las frondas, siendo una estrategia de supervivencia en condiciones adversas. A pesar de todo ello, se evidenció porcentajes de supervivencia moderadamente altos corroborando la alta rusticidad y tolerancia a diversas condiciones estresantes del medio. No se evidenciaron diferencias significativas en el número de DFS al final del experimento entre las tres poblaciones de estudio (Tabla 20) sin embargo, Mendieta presentó el promedio más alto además de ser la única población que presentó DFS en todas sus valvas. La morfología especial de los individuos vegetativos, que permitían un flujo uniforme de nutrientes y cubrían toda la superficie de la valva eficientemente, su alta capacidad vegetativa (pudiendo ser una alta estrategia reproductiva de esta especie en las condiciones de su medio natural) y su alta rusticidad (las algas de Mendieta pudieron ser reutilizadas una vez retiradas de las valvas a diferencia de las otras que tuvieron que ser desechadas completamente) han evidenciado que esta población es la más adecuada para realizar cultivos vegetativos.

El cultivo a partir de carposporas evidenció tasas de crecimiento (TC) más altas que el cultivo vegetativo en todas las poblaciones estudiadas (Tabla 12 y 21) lo que podría evidenciar que el cultivo a partir de carposporas resultaría más adecuado. Sin embargo, dadas las condiciones de cultivo no se puede tener una conclusión clara al respecto, dado



que el crecimiento se ha mantenido condicionado a las condiciones del cultivo pudiendo mostrar valores subestimados de TC dado que ambas estrategias reproductivas están notablemente afectadas a las condiciones del entorno. Ciertas condiciones pueden desencadenar el beneficio de una u otra estrategia reproductiva según sea conveniente para su supervivencia (Santelices, 1990). La baja TC de los DFS puede deberse que la formación de DFS y costras es una estrategia de supervivencia ampliamente documentada por diversos autores (Alveal, 2001; Fonck *et al.*, 2008; Sáez *et al.*, 2008), por lo tanto, al desarrollarse en condiciones estresantes su crecimiento puede verse reducido para tolerar tales condiciones. El cultivo a partir de carposporas resultó más conveniente dado que su alto potencial reproductivo posibilita la masificación del cultivo. Es así como con casi 5 gramos alga reproductiva, se ha podido obtener entre 1680 a 4463 individuos al final del cultivo a diferencia de lo obtenido con la misma cantidad por el cultivo vegetativo (1 a 27 DFS/valva). La alta supervivencia del cultivo vegetativo se puede explicar debido a que esta condición crustosa está adaptada a tolerar condiciones estresantes a diferencia de las carposporas las cuales en el medio natural se asientan y germinan en condiciones favorables.

En líneas generales, se ha podido corroborar el alto potencial reproductivo de *C. chamissoi* a partir de carposporas y la alta capacidad para formar DFS señalada por (Alveal, 2001) en las tres poblaciones de estudio. Aunque ciertamente se ha obtenido valores de crecimiento bajos en ambos procedimientos de cultivo, los valores altos de Dc y los valores de asentamiento iniciales de carposporas, así como los valores de DFS al inicio del experimento demuestran que los procedimientos tanto de inducción a la esporulación y la estrategia de formación de DFS son válidos como estrategia de cultivo para las tres poblaciones de estudio. Estos resultados demuestran la capacidad de realizar el cultivo de esta especie bajo condiciones rústicas y fácilmente implementables en cualquier área con disponibilidad de agua de mar. Claramente se tiene que implementar diversas mejoras a los sistemas de cultivo (implementar un sistema de recirculación con un flujo continuo de agua de mar y optimizar el proceso de asentamiento, esterilizar el agua, entre otros) lo que resultaría muy seguramente en valores de crecimiento más favorables. La población de Mendieta a la luz de los resultados resultó ser la más adecuada para implementar tanto un cultivo vegetativo como a partir de carposporas, sin embargo su extracción para realizar un cultivo en otras regiones del país puede ser restrictivo. Los resultados han demostrado que

es posible realizar el cultivo con algas en condiciones diferentes a su medio ambiente natural (Las algas de Paiján pudieron cultivarse en las condiciones del Callao) abriendo la posibilidad de poder realizar el cultivo de esta especie en diversas áreas del litoral. Obviamente que ciertas condiciones se deberían tener en cuenta con el proceso de traslado de algas para el inicio de un cultivo, lo que notablemente podrá ser elucidado con estudios posteriores.

El cultivo a partir de carposporas resultó más conveniente que el cultivo vegetativo, sin embargo ambas estrategias pueden ser ampliamente utilizadas según los requerimientos y/o posibilidades logísticas de un cultivo pudiendo implementarse simultánea o alternadamente según las condiciones del entorno. No se puede desacreditar una u otra metodología de cultivo, dado que la luz de los resultados ambos procedimientos resultaron eficientes como estrategia de cultivo; sin embargo, diversas consideraciones particulares deben tenerse en cuenta antes de iniciar uno u otro cultivo.

## V.CONCLUSIONES

Individuos provenientes de Ancón, Mendieta y Paiján son viables para iniciar procedimientos de cultivo a partir de carposporas y mediante formación de discos de fijación secundaria (DFS) con altos valores de densidad de carposporas (de 795125 a 1 342 625) y asentamiento (de 40500 a 67500) y DFS formados respectivamente (de 5 a 13).

La población de Mendieta es la más adecuada para el cultivo a partir de carposporas dado su alta tolerancia a tiempos prolongados de traslado, al valor de densidad del “caldo” de carposporas ( $1\ 134\ 500 \pm 181\ 259$ ) y el número de plántulas sobrevivientes al final del experimento ( $4463 \pm 766$ )

La población de Mendieta tiene una morfología adecuada para el cultivo vegetativo por formación de discos de fijación secundaria (DFS) y resulta más adecuada para este cultivo dada su alta tolerancia a tiempos prolongados de traslado, a los altos valores en el número de DFS/valva formados al inicio del cultivo (13) y al número de DFS/valva sobrevivientes al final del experimento (9).

El cultivo a partir de carposporas es un cultivo más eficiente que el cultivo vegetativo por formación de discos de fijación secundaria (DFS) para las condiciones experimentales desarrolladas en la presente investigación debido a la alto potencial reproductivo (de 12 869 573 a 353 973 093) y altos valores de asentamiento observados (de 40500 a 67500).

## VI. RECOMENDACIONES

- Se debe realizar una caracterización del entorno previa a cualquier proceso de cultivo con la finalidad de determinar las condiciones ecológicas y ambientales en las que se desarrolla los individuos que serán parte del cultivo.
- Para el cálculo de la densidad del “caldo” de esporas (Dc) mantener similares todas las condiciones entre las poblaciones en estudio; dado que cualquier valor diferente (como en el presente estudio el tiempo de traslado) puede afectar la representatividad de los resultados.
- Se recomienda realizar las primeras etapas del cultivo a partir de esporas con las condiciones de cultivo más controladas posibles (agua filtrada y esterilizada con UV, etc.) de manera que se pueda obtener valores de asentamiento mucho más altos disminuyendo el riesgo de tener mortalidades altas en las primeras fases de este cultivo. Posteriormente a estas etapas críticas, el nivel de control puede reducirse paulatinamente hasta llegar a un cultivo semi-controlado (el agua de mar que se utiliza proviene directamente del medio marino donde se realizará la futura siembra). Se puede ir trabajando con el fotoperiodo natural (luz de día) para llegar a mantener el cultivo a condiciones muy similares a su entorno
- Se recomienda implementar una etapa de pre-adaptación a las condiciones de cultivo a las algas vegetativas que se pretendan utilizar para el cultivo vegetativo antes de fijarlas sobre las valvas. De manera que estos individuos puedan adecuarse al flujo de agua del cultivo, disponibilidad de nutrientes, luz, etc. Siendo este un filtro previo ya que las algas que se fijen sobre las valvas deben ser aquellas que hayan demostrado su adaptación a las nuevas condiciones y no hayan desarrollado

necrosamiento ni despigmentación. Este procedimiento puede tener una duración de 30 a 40 días dependiendo del material.

- Se debe desarrollar un cultivo con un sistema de flujo continuo de agua de mar y/o con un sistema de recirculación dado que es más eficiente pues permite el movimiento constante de los individuos del cultivo reduciendo los problemas fisicoquímicos ocasionados por el “estancamiento” del agua, además que se puede reducir notablemente la utilización de nutriente externo tal y como lo señalan diversos autores.
- Se debe estudiar el efecto del sustrato con Bicarbonato de sodio para determinar fehacientemente si es beneficioso en el proceso de asentamiento de las esporas.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- Acleto, C. 1971. Algas marinas del Perú de importancia económica. Serie de divulgación Nro. 5. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú. Pág.: 13
- Acleto, C.; Zúñiga. 1998. Introducción a las algas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 1 Ed. Lima, Perú. Pág.: 263
- Agrawal, S. C. 2009. Factors affecting spore germination in Algae – review. Folia Microbiologic: 54 (4): 273–302.
- Alveal, K.; Romo, H.; Werlinger, C. 1995. Cultivo de *Gracilaria* a partir de esporas. En Alveal, K.; Ferrario, M. E.; Oliveira, E. C.; Sar, E. 1995. Manual de Métodos ficológicos. Pág.: 599-609. Universidad de Concepción. Chile
- Alveal, K.; Romo, H.; Werlinger, C.; Vallejos, P.; Alveal, K.; Alveal, A. 1999. Desarrollo inicial de *Chondracanthus chamissoi* sobre sustrato artificial. Resúmenes del Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Perú. 14-16.
- Alveal, K. 2001. Estrategias reproductivas de Rhodophyta y sus nexos con biodiversidad. En: Alveal, K; Antezana, T. Sustentabilidad de la biodiversidad. Universidad de Concepción-Chile. Pág.:367-388.
- Ávila, M.; Ask, E.; Rudolph, B.; Nuñez, M.; Norambuena, R. 1999. Economic feasibility of *Sarcothalia* (Gigartinales, Rhodophyta) cultivation.
- 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.
- Barrientos, E.; Otaíza, D.R. 2014. Juveniles generados a partir de esporas no asentadas de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) presentan capacidad de

- adhesión al sustrato. Nota científica. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 49 (1): 135-140.
- Barsanti, L.; Gualtieri, P. 2014. *Algae, anatomy, biochemistry and biotechnology*. 2nd edition. Istituto di Biofisica. Pisa – Italy.
  - Bulboa, R. C.; Macchiavello, E. J. 2001. The effects of the light and temperature on different phases of the life cycle in the carrageenan producing alga *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Botanica Marina* 44: 371 – 374.
  - 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.
  - 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. *Invest. Mar., Valparaíso*, 34(1): 109-112.
  - Bulboa, C.C. 2006. Bases bio-tecnológicas para o cultivo de *Chondracanthus chamissoi*, uma alga vermelha de importância econômica da costa chilena. Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Doutor em Ciências, na Área de Botânica. Brasil.
  - Bulboa, C.; Macchiavello, J.; Oliveira, E.; Véliz, K. 2008. Grow rate differences between four Chilean populations of edible seaweed *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Aquaculture Research*, 39: 1550-1555.
  - Bulboa, C.; Macchiavello, J.; Véliz, K.; Oliveira, C. 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.; 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.
  - Buschmann, A. H.; Kuschel, A. F.; Vergara, A. P.; Schulz, J. 1992. Intertidal Gracilaria farming in southern Chile: differences of the algal provenience. *Aquatic Botany*, 42: 327 – 337.
  - Buschmann, H. A; Vásquez, J. A; Osorio, P.; Reyes, E.; Filún, L.; Hernández-González, M.C.; Vega, A. 2004. The effect of water movement, temperature and salinity on

- abundance and reproductive patterns of *Macrocystis* spp. (Phaeophyta) at different latitudes in Chile. *Marine Biology* 145: 849-862
- Calderón, M.; Ramírez, M.H.; Bustamante, D. 2010. Notas sobre tres especies de Gigartinaceae (Rhodophyta) del litoral peruano. *Rev. peru. biol.* 17(1): 115- 121.
  - Carbajal, W.; Galán J.; De la Cruz, J. 2005. Prospección del recurso *Chondracanthus chamissoi* “cochayuyo” en la playa de Huanchaco (Trujillo), Junio – Julio 2005. Instituto del Mar del Perú.
  - Carbajal, W.; De la Cruz, J.; Galán, J. 2005. Prospección del recurso *Chondracanthus chamissoi* “cochayuyo” en la Caleta de Chérrepe (Lambayeque), Julio 2005. Instituto del Mar del Perú.
  - Chopin, T.; Pringle, J. D.; Semple, R. E. 1988. Reproductive capacity of dragraked and non dragraked Irish moss (*Chondrus crispus* Stackhouse) beds in the southern Gulf of St. Lawrence. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49: 758 - 766.
  - Dawson, Y.; Acleto, C.; Foldvik, N. 1964. The seaweeds of Peru. *Nova Helwigia.* 13: 1 – 111.
  - Edding, M. E. Cultivo de *Gracilaria* en estanques. 1995. En Alveal, K.; Ferrario, M. E.; Oliveira, E. C.; Sar, E. 1995. *Manual de Métodos Ficológicos.* Universidad de Concepción. Chile. Pág.: 577-597.
  - Egan, S.; Thomas, T.; Holmström, C.; Kjelleberg, S. 2000. Phylogenetic relationship and antifouling activity of bacterial epiphytes from the marine alga *Ulva lactuca*. *Environ. Microbiol.* 2, 343–347.
  - Fonck, E.; Martínez R.; Vásquez, J.; Bulboa, C. 2007. Factors that affect the re-attachment of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) thalli. *J Appl Phycol.*
  - Garza-Sánchez, F.; Zertuche-González, J. A.; Chapman, D. J. 2000. Effect of temperature and irradiance on the release, attachment and survival of spores of *Gracilaria pacifica* Abbott (Rhodophyta). *Botanica Marina* Vol. 43: 205 – 212.
  - Glenn, E. P.; Moore, D.; Fitzsimmons, K., Azevedo, C. 1996. Spore culture of the edible red seaweed, *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta). *Aquaculture* 142: 59-74
  - Hanisak, M.D., Littler, M.M.; Littler, D.S. 1990. Application of the functional form model to the culture of seaweeds. *Hydrobiologia:* 204/205: 73-77.
  - Hayashi, L.; Bulboa, C.; Kradolfer, P.; Soriano G.; Robledo D. 2013. Cultivation of red seaweeds: a Latin American perspective. *J. Appl. Phycol.* 26:719 – 729.



- Israel, A. 1995. Determinación de la producción primaria en macroalgas marinas. En Alveal, K.; Ferrario, M. E.; Oliveira, E. C.; Sar, E. (1995). Manual de Métodos Ficológicos. 1995. Pág.: 397-416. Universidad de Concepción. Chile.
- Lobban, R.; Harrison, P. 1994. Seaweed Ecology and Physiology. Cambridge University Press.
- 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. Tesis Doctoral. Universidad Católica del Norte.
- Macchiavello, J., Bulboa, C., Edding, M., 2003. Vegetative propagation and spore recruitment in the carrageenophyte *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile. Phycological Research 51, 45–50.
- Maggs, A. A.; Callow, M. E. 2003. Algal Spores. Encyclopedia of life sciences. Nature Publishing group, London, version 1.0, Pág.: 1 - 6
- Oliveira, E. C.; Paula, E. J.; Plastino, E. M.; Petti, R. 1995. Metodologías para el cultivo no axénico de macroalgas marinas *in vitro*. En Alveal, K.; Ferrario, M. E.; Oliveira, E. C.; Sar, E. 1995. Manual de Métodos Ficológicos. Pág.: 429-447. Universidad de Concepción. Chile.
- Otaíza, D. R.; Fonseca, G. F. 2011. Effect of dissolved calcium on the formation of secondary attachment structures in different types of branches of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). Nota de investigación. Revista de Biología Marina y Oceanografía. 46 (2): 263-268.
- Pacheco-Ruíz, I.; Zertuche-González, J. A.; 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.
- Pacheco-Ruíz, I.; Zertuche-González, J. A.; Espinoza-Ávalos, J. 2005. The role of the secondary attachment discs in the survival of *Chondracanthus squarulosus* (Gigartinales, Rhodophyta). Phycologia 44: 629–631.
- Pariona, E. 2004. Determinación de la abundancia de las fases reproductivas de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützing y reclutamiento sobre sustrato calcáreo en una pradera de playa Mendieta. Reserva Nacional de Paracas - Perú. Tesis para optar el título de biólogo. UNALM. Lima – Perú.

- Ramírez, M.E.; Santelices, B. 1991. Catálogo de las algas marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico Sudamericano. Monografías Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Publicaciones Periódicas Vicerrectoría Académica, Santiago de Chile, 5: 6-19.
- Redmond, S.; Green, L.; Yarish, C. H.; Kim, J.; Neefus, C. 2014. New England, Seaweed culture handbook. Nursery systems. University of Connecticut & University of New Hampshire.
- Riofrío, L. 2003. Efecto de la variabilidad térmica sobre la biología vegetativa y reproductiva de *Chondracanthus chamissoi* (Agardh) Kützing (Rhodophyta) en la bahía de Ancón, Perú. Tesis para optar el título de Biólogo. UNMSM. 41 pp.
- 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: 63-65.
- Santelices, B. 1990. Patterns of reproduction, dispersal and recruitment in seaweeds. Oceanography Marine Biology Annual Review, Vol. 28, Pág. 177-276.
- Santelices, B.; Varela, D. 1993. Intra-clonal variation in the red seaweed *Gracilaria chilensis*. Marine Biology 116: 543-552.
- Salinas, J. M.; Valdés, L. 1993. Influence of temperature and photoperiod on the re-attachment process of *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Born. Et Thur. (Gelidiales: Rhodophyta). Journal of Applied Phycology: 317-326.
- Silva-aciare, F.; Riquelme, C. 2008. Inhibition of attachment of some fouling diatoms and settlement of *Ulva lactuca* zoospores by film forming bacterium and their extracellular products isolated from biofouled substrata in Northern Chile. Electronic J.Biotechnol. 11, 1-11.
- Universidad Católica del Norte 2012. Manual de Cultivo de *Chondracanthus chamissoi* “Chicorea de Mar”. Fondef. Chile.
- Vásquez, J. A.; Vega, J. M. 2001. *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile: ecological aspects for management of wild populations. Journal of Applied Phycology 13: 267-277.
- Vega, J.M.A.; Meneses, I. 2001. Seasonal and spatial monitoring of productivity and of reproduction of *Chondrus canaliculatus* (Gigartinales, Rhodophyta) from Chile. Botanica Marina Vol. 44: 571-581.

- Yang, M.Y.; Macaya, E.C.; Kim, M.S. 2015. Molecular evidence for verifying the distribution of *Chondracanthus chamissoi* and *C. teedei* (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Botanica Marina* 2015; 58(2): 103–113

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1. Información morfológica de especímenes Ancón

	<b>Talla (cm)</b>	<b>Grosor (mm)</b>	<b>Peso (g.)</b>
Individuo 1	25	7	6.25
Individuo 2	25	11	6.60
Individuo 3	20	6	5.69
Individuo 4	24	10	5.19
Individuo 5	22	9	2.12
Individuo 6	23	7	3.94
Individuo 7	16	10	4.20
Individuo 8	28	8	7.73
Individuo 9	22	9	6.99
Individuo 10	15	8	3.99
Individuo 11	18	7	4.70
Individuo 12	21	8	4.05
Individuo 13	22	8	6.64
Individuo 14	26	8	3.81
Individuo 15	23	7	3.94
<b>PROMEDIO</b>	<b>22</b>	<b>8.2</b>	<b>5.06</b>

### Anexo 2. Información morfológica de especímenes de Paiján

	<b>Talla (cm)</b>	<b>Grosor (mm)</b>	<b>Peso (g.)</b>
Individuo 1	10.5	2	0.55
Individuo 2	14.1	2.5	0.63
Individuo 3	15.2	3	0.96
Individuo 4	18.6	2	1.07
Individuo 5	12.0	1.5	0.61
Individuo 6	20.6	2	1.08
Individuo 7	21.5	2.5	2.21
Individuo 8	17.2	3	1.14
Individuo 9	18.5	2.5	1.52
Individuo 10	18.1	2	0.82
Individuo 11	19.7	2	1.58
Individuo 12	19.6	2.5	0.67
Individuo 13	10.5	1.5	0.99
Individuo 14	20.5	2	1.91

Individuo 15	12.4	2.5	2.37
<b>PROMEDIO</b>	<b>16.60</b>	<b>2.06</b>	<b>1.21</b>

**Anexo 3.** Información morfológica de especímenes de Mendieta

	<b>Talla (cm)</b>	<b>Grosor (mm)</b>	<b>Peso (g.)</b>
Individuo 1	13.0	6	0.9
Individuo 2	11.2	4	1.0
Individuo 3	17.0	4	0.9
Individuo 4	18.0	5	3.4
Individuo 5	22.0	4	5.2
Individuo 6	17.0	8	3.9
Individuo 7	22.0	6	3.1
Individuo 8	17.5	4	2.5
Individuo 9	16.5	5	4.9
Individuo 10	14.0	6	1.5
Individuo 11	15.0	4	1.9
Individuo 12	14.8	6	1.5
Individuo 13	14.2	6	1.7
Individuo 14	13.0	5	3.5
Individuo 15	15.5	5	2.3
<b>PROMEDIO</b>	<b>16.05</b>	<b>5.20</b>	<b>2.42</b>

**Anexo 4.** Potencial reproductivo (PR) de Ancón

	<b># de Cistocarpos por gramo</b>	<b># Cistocarpos totales</b>	<b># de esporas por Cistocarpo</b>	<b>Producción de esporas</b>
Individuo 1	3229	20181	20000	403,625,000.00
Individuo 2	4089	26987	20000	539,748,000.00
Individuo 3	2649	15073	20000	301,456,200.00
Individuo 4	3445	17879.55	20000	357,591,000.00
Individuo 5	4077	8643.24	20000	172,864,800.00
Individuo 6	3322	13088.68	20000	261,773,600.00
Individuo 7	4260	17892	20000	357,840,000.00
Individuo 8	2237	17292.01	20000	345,840,200.00
Individuo 9	2632	18397.68	20000	367,953,600.00
Individuo 10	3105	12388.95	20000	247,779,000.00
Individuo 11	2719	12779.3	20000	255,586,000.00
Individuo 12	6200	25110.00	20000	502,200,000.00
Individuo 13	2702	17941.28	20000	358,825,600.00
Individuo 14	2779	10587.99	20000	211,759,800.00
Individuo 15	3322	13088.68	20000	261,773,600.00
<b>PROMEDIO</b>	<b>3384.5</b>	<b>16488.7</b>	<b>20000</b>	<b>329,774,426.67</b>

**Anexo 5.** Potencial reproductivo (PR) de Paiján

	<b># de cistocarpos por gramo</b>	<b># de cistocarpos totales (por indiv.)</b>	<b># de esporas por cistocarpo</b>	<b>Producción de esporas</b>
Individuo 1	2379	1308	5000	6,542,250.00
Individuo 2	1620	1021	5000	5,103,000.00
Individuo 3	2150	2064	5000	10,320,000.00
Individuo 4	1825	1953	5000	9,763,750.00
Individuo 5	2700	1647	5000	8,235,000.00
Individuo 6	2295	2479	5000	12,393,000.00
Individuo 7	2091	4621	5000	23,105,550.00
Individuo 8	1688	1924	5000	9,621,600.00
Individuo 9	2738	4162	5000	20,808,800.00
Individuo 10	2234	1832	5000	9,159,400.00
Individuo 11	1850	2923	5000	14,615,000.00
Individuo 12	2275	1524	5000	7,621,250.00
Individuo 13	2742	2715	5000	13,572,900.00
Individuo 14	1908	3644	5000	18,221,400.00
Individuo 15	2022	4792	5000	23,960,700.00
<b>PROMEDIO</b>	<b>2167.80</b>	<b>2573.91</b>	<b>5000</b>	<b>12,869,573.33</b>

**Anexo 6.** Potencial reproductivo (PR) de Mendieta

	<b># de cistocarpos por gramo</b>	<b># de cistocarpos totales (por indiv.)</b>	<b># de esporas por cistocarpo</b>	<b>Producción de esporas</b>
Individuo 1	2359	2147	30000	64,400,700
Individuo 2	1600	1600	30000	48,000,000
Individuo 3	2450	2205	30000	66,150,000
Individuo 4	1160	3944	30000	118,320,0000
Individuo 5	1388	7218	30000	216,528,000
Individuo 6	1898	7402	30000	222,066,000.
Individuo 7	1557	4842	30000	145,268,100
Individuo 8	1333	3333	30000	99,975,000
Individuo 9	3106	9070	30000	272,085,600
Individuo 10	2438	3706	30000	111,172,800
Individuo 11	1954	3732	30000	111,964,200
Individuo 12	3388	5048	30000	151,443,600
Individuo 13	2455	4223	30000	126,678,000
Individuo 14	1999	7116	30000	213,493,200
Individuo 15	2902	6704	30000	201,108,600
<b>PROMEDIO</b>	<b>2132.47</b>	<b>4819.23</b>	<b>30000</b>	<b>144,576,920</b>

**Anexo 7.** Tallas de las plántulas de *C. chamissoi* de Ancón a lo largo del cultivo a partir de carposporas.

	Días de cultivo								
	15	37	46	56	68	82	87	100	120
R 1*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 2	40.5	68	127.5	176.5	249.5	385.25	426.87	502.5	591.76
R 3	39.25	60.27	107.5	152.75	284.21	447	505	608.13	700.50
R 4	37.5	56.43	104.47	139	279.41	415.75	493.5	555.88	721.10
<b>PR.</b>	<b>39.1</b>	<b>61.6</b>	<b>113.2</b>	<b>156.1</b>	<b>271.0</b>	<b>416.0</b>	<b>475.1</b>	<b>555.5</b>	<b>671.1</b>

**Anexo 8.** Tallas de las plántulas de *C. chamissoi* de Paiján a lo largo del cultivo a partir de carposporas.

	Días de cultivo								
	15	37	46	56	68	82	87	100	120
R 1	59	64.5	81.7	109.5	155	178.8	245	366.78	407.14
R 2	52.5	59.5	66.7	92.5	116.8	129.3	165	250.6	351.9
R 3	54	64.5	99.1	114.5	161.8	177.8	190	263	332.5
R 4	52.2	60.5	75.8	117.5	143.3	169.4	190	277	365.56
<b>PR.</b>	<b>54.4</b>	<b>62.3</b>	<b>80.8</b>	<b>108.5</b>	<b>144.2</b>	<b>163.8</b>	<b>197.5</b>	<b>289.3</b>	<b>364.3</b>

**Anexo 9.** Tallas de las plántulas de *C. chamissoi* de Mendieta a lo largo del cultivo a partir de carposporas.

	Días de cultivo								
	15	24	37	43	56	71	109	122	
R 1	40.31	55.2	95.25	133.13	167.36	230	310.91	388.8	
R 2	40	67.64	138.68	195	260.75	345.72	440.83	498.5	
R 3	33.12	49.37	77.78	80.9	90.43				
R 4	39.6	60.93	96.42	109.28	148.57	212.86	345.67	455.5	
<b>PR.</b>	<b>40</b>	<b>61.3</b>	<b>110.1</b>	<b>145.8</b>	<b>192.2</b>	<b>262.9</b>	<b>365.8</b>	<b>447.6</b>	

**Anexo 10.** Crecimiento de DFS de *C. chamissoi* proveniente de Ancón en un cultivo vegetativo.

Días	Tamaño promedio de los DFS (mm)										TC
	0	22	31	41	53	67	72	85	101	121	
R 1	0.46	0.56	0.69	0.79	0.9	1.11	1.32	1.57	1.88	1.94	1.20
R 2	0.55	0.64	0.72	0.81	0.93	1.08	1.39	1.62	2.05	2.15	1.13
R 3	0.39	0.52	0.68	0.8	0.92	1.19	1.37	1.54	1.78	1.86	1.30
R 4	0.36	0.46	0.55	0.65	0.77	0.85	1.01	1.21	1.49	1.58	1.23
R 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

R 7	0.32	0.41	0.54	0.69	0.8	0.98	1.15	1.39	1.57	1.65	1.36
R 8	0.23	0.38	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Promedio</b>	<b>0.39</b>	<b>0.50</b>	<b>0.64</b>	<b>0.75</b>	<b>0.86</b>	<b>1.04</b>	<b>1.25</b>	<b>1.47</b>	<b>1.75</b>	<b>1.91</b>	<b>1.24</b>

**Anexo 11.** Crecimiento de DFS de *C. chamissoi* proveniente de Paiján en un cultivo vegetativo.

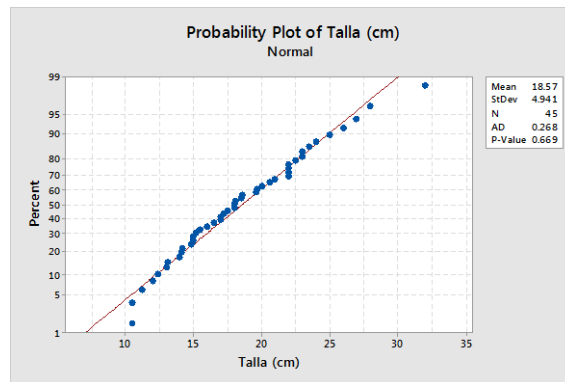
Días	Tamaño promedio de los DFS (mm)									TC
	0	7	14	21	29	41	54	76	120	
R1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00
R 2	0.8	1.1	1.6	1.78	1.91	2.15	2.38	2.47	2.67	1.01
R 3	0.47	0.54	0.63	0.65	0.69	0.92	1.25	1.33	1.55	1.00
R 4	0.52	0.6	0.71	0.84	0.9	1.1	1.3	1.48	1.66	0.97
R 5	0.36	0.46	0.52	0.65	0.69	1.2	1.35	1.41	1.53	1.21
R 6	0.3	0.4	0.57	0.68	0.77	0.87	1.1	1.29	1.44	1.32
R 7	0.2	0.3	0.46	0.52	0.58	0.7	0	0	0	0.00
R 8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
<b>Promedio</b>	<b>0.44</b>	<b>0.57</b>	<b>0.75</b>	<b>0.85</b>	<b>0.92</b>	<b>1.16</b>	<b>1.48</b>	<b>1.60</b>	<b>1.77</b>	<b>1.10</b>

**Anexo 12.** Crecimiento de DFS de *C. chamissoi* proveniente de Mendieta en un cultivo vegetativo.

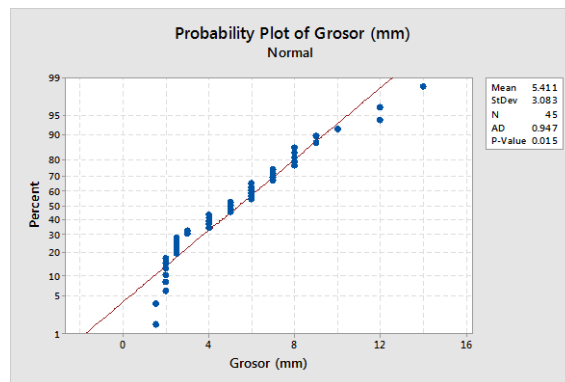
Días	Tamaño promedio de los DFS								TC
	0	7	15	22	29	61	107	117	
R 1	0.62	0.71	0.94	1.11	1.25	1.45	1.76	1.89	0.96
R 2	0.53	0.86	0.96	1.19	1.54	1.74	1.99	2.13	1.20
R 3	0.46	0.57	0.69	0.84	1.08	1.33	1.62	1.83	1.19
R 4	0.36	0.59	0.89	1.01	1.17	1.55	1.92	2.03	1.49
R 5	0.45	0.59	0.75	0.9	1.04	1.27	1.83	1.99	1.28
R 6	0.6	0.83	0.94	1.13	1.19	1.72	2.01	2.11	1.08
R 7	0.27	0.35	0.56	0.87	0.95	1.22	1.46	1.65	1.56
R 8	0.49	0.59	0.71	0.83	0.97	1.18	1.53	1.71	1.07
<b>Promedio</b>	<b>0.47</b>	<b>0.64</b>	<b>0.81</b>	<b>0.99</b>	<b>1.15</b>	<b>1.43</b>	<b>1.77</b>	<b>1.92</b>	<b>1.23</b>



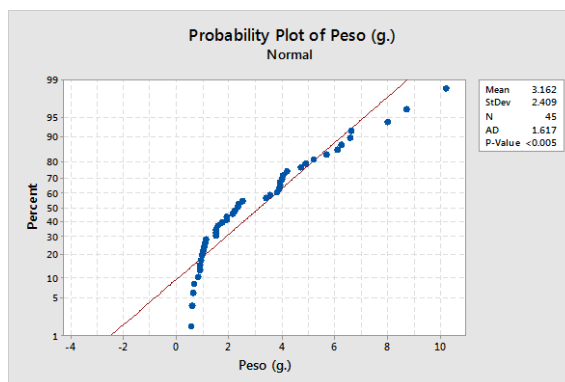
**Anexo 13.** Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “talla”.



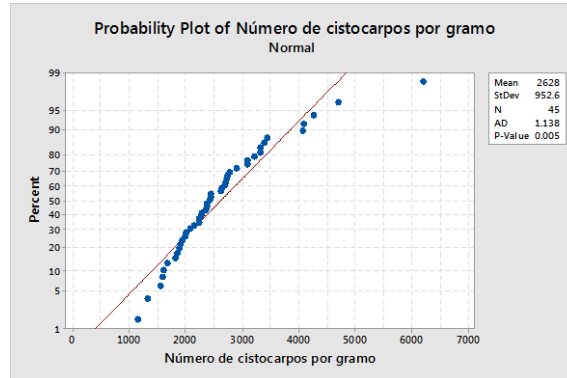
**Anexo 14.** Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “grosor”.



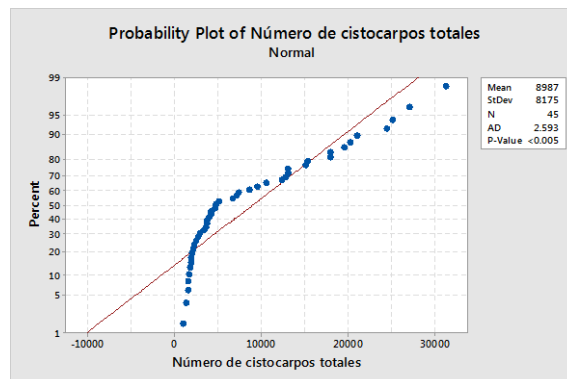
**Anexo 15.** Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “peso”.



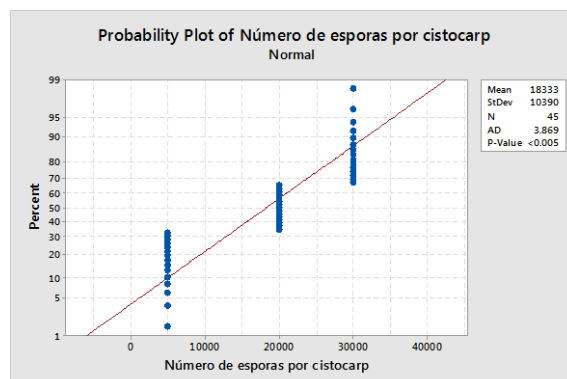
**Anexo 16.** Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “Número de cistocarpos por gramo”.



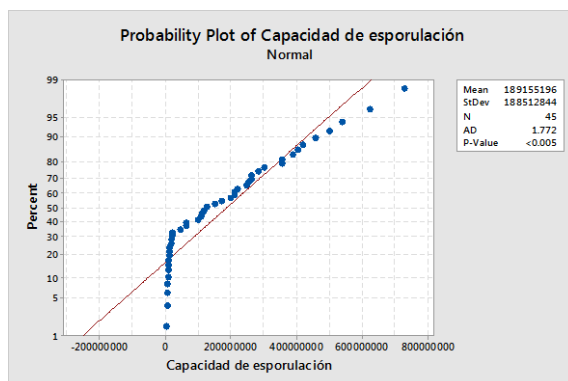
**Anexo 17.** Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “Número de cistocarpos totales”.



**Anexo 18.** Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “Número de esporas por cistocarp”.



**Anexo 19.** Prueba de Normalidad (Anderson Darling) para la variable “Potencial reproductivo”.



**Anexo 20.** Análisis de Varianza (ANOVA) y Tukey para la variable “Talla”.

Method

Null hypothesis All means are equal  
 Alternative hypothesis At least one mean is different  
 Significance level  $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Localidades	3	Ancon, Mendieta, Paiján

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Localidades	2	342.9	171.46	9.85	0.000
Error	42	731.2	17.41		
Total	44	1074.1			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
4.17242	31.93%	28.68%	21.85%

Means

Localidades	N	Mean	StDev	95% CI
Ancon	15	22.47	4.39	(20.29, 24.64)
Mendieta	15	16.38	3.91	(14.21, 18.56)
Paiján	15	16.87	4.21	(14.69, 19.04)

Pooled StDev = 4.17242

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Localidades	N	Mean	Grouping
Ancon	15	22.47	<b>A</b>
Paiján	15	16.87	<b>B</b>
Mendieta	15	16.38	<b>B</b>

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous Tests for Differences of Means

Difference of Levels	Difference of Means	SE of Difference	95% CI	T-Value	Adjusted P-Value
Mendieta - Ancon	-6.08	1.52	(-9.79, -2.38)	-3.99	0.001
Paiján - Ancon	-5.60	1.52	(-9.31, -1.89)	-3.68	0.002
Paiján - Mendieta	0.48	1.52	(-3.22, 4.19)	0.32	0.946

Individual confidence level = 98.07%

## Anexo 21. Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Grosor”

### Kruskal-Wallis Test: Grosor (mm) versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Grosor (mm)

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancon	15	8.000	37.4	5.19
Mendieta	15	5.000	23.6	0.23
Paiján	15	2.000	8.0	-5.42
Overall	45		23.0	

H = 37.55 DF = 2 P = 0.000

**H = 37.93 DF = 2 P = 0.000** (adjusted for ties)

### Mann-Whitney Test and CI: Ancon, Paiján

	N	Median
Ancon	15	8.000
Paiján	15	2.000

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 6.000

95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (5.000,7.000)

W = 345.0

Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0000

**The test is significant at 0.0000 (adjusted for ties)**

### Mann-Whitney Test and CI: Ancon, Mendieta

	N	Median
Ancon	15	8.000
Mendieta	15	5.000

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 3.000

95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (2.000,4.000)

W = 335.5

Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0000

**The test is significant at 0.0000 (adjusted for ties)**

### Mann-Whitney Test and CI: Mendieta, Paiján

	N	Median
Mendieta	15	5.000
Paiján	15	2.000

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 3.000  
 95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (2.000,3.500)  
 W = 345.0  
 Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0000  
**The test is significant at 0.0000 (adjusted for ties)**

## Anexo 22. Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Peso”

### Kruskal-Wallis Test: Peso (g.) versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Peso (g.)

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancon	15	4.700	35.3	4.43
Mendieta	15	2.310	22.7	-0.12
Paiján	15	1.070	11.1	-4.31
Overall	45		23.0	

H = 25.48 DF = 2 P = 0.000  
**H = 25.48 DF = 2 P = 0.000** (adjusted for ties)

### Mann-Whitney Test and CI: Ancon, Paiján

	N	Median
Ancon	15	4.700
Paiján	15	1.070

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 3.560  
 95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (2.950,5.059)  
 W = 343.0  
 Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0000  
**The test is significant at 0.0000 (adjusted for ties)**

### Mann-Whitney Test and CI: Ancon, Mendieta

	N	Median
Ancon	15	4.700
Mendieta	15	2.310

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 2.450  
 95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (0.799,3.700)  
 W = 306.0  
 Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0012  
**The test is significant at 0.0012 (adjusted for ties)**

### Mann-Whitney Test and CI: Mendieta, Paiján

	N	Median
Mendieta	15	2.310
Paiján	15	1.070

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 1.170  
 95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (0.350,2.580)  
 W = 301.0  
 Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0024  
**The test is significant at 0.0024 (adjusted for ties)**

## Anexo 23. Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Número de cistocarpos por gramo”

### Kruskal-Wallis Test: Número de cistocarpos por gramo versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Número de cistocarpos por gramo

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancon	15	3322	35.4	4.48
Mendieta	15	2359	17.5	-1.97
Paiján	15	2150	16.1	-2.50
Overall	45		23.0	

H = 20.15 DF = 2 P = 0.000  
**H = 20.15 DF = 2 P = 0.000** (adjusted for ties)

### Mann-Whitney Test and CI: Ancon, Paiján

	N	Median
Ancon	15	3322.0
Paiján	15	2150.0

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 1159.0  
95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (688.0,1782.0)  
W = 331.0  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0000  
**The test is significant at 0.0000** (adjusted for ties)

### Mann-Whitney Test and CI: Ancon, Mendieta

	N	Median
Ancon	15	3322.0
Mendieta	15	2359.0

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 1162.0  
95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (677.9,1800.0)  
W = 320.0  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0002  
**The test is significant at 0.0002** (adjusted for ties)

### Mann-Whitney Test and CI: Paiján, Mendieta

	N	Median
Paiján	15	2150.0
Mendieta	15	2359.0

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is -71.0  
95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (-433.0,355.1)  
W = 227.0  
**Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 \neq \eta_2$  is significant at 0.8357**

## Anexo 24. Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Número de cistocarpos totales”

### Kruskal-Wallis Test: Número de cistocarpos totales versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Número de cistocarpos totales

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancon	15	17880	36.7	4.94
Mendieta	15	4223	21.6	-0.51
Paiján	15	2064	10.7	-4.43
Overall	45		23.0	

H = 29.50 DF = 2 P = 0.000

**H = 29.50 DF = 2 P = 0.000 (adjusted for ties)**

### Mann-Whitney Test and CI: Ancon, Paiján

	N	Median
Ancon	15	17880
Paiján	15	2064

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 14248

95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (10715,18117)

W = 345.0

Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0000

**The test is significant at 0.0000** (adjusted for ties)

### Mann-Whitney Test and CI: Ancon, Mendieta

	N	Median
Ancon	15	17880
Mendieta	15	4223

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 10850

95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (6882,15745)

W = 325.0

Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0001

**The test is significant at 0.0001** (adjusted for ties)

### Mann-Whitney Test and CI: Mendieta, Paiján

	N	Median
Mendieta	15	4222.6
Paiján	15	2064.0

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 2297.0

95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (680.5,4892.2)

W = 304.0

**Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0016**

**Anexo 25.** Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “Número de carposporas por cistocarpos”. En este caso no se realizó la prueba de Mann-Whitney porque todos los valores dentro de cada localidad son constantes.

### Kruskal-Wallis Test: Número de esporas por cistocarpo versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Número de esporas por cistocarp

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancon	15	20000	23.0	0.00
Mendieta	15	30000	38.0	5.42
Paiján	15	5000	8.0	-5.42
Overall	45		23.0	

H = 39.13 DF = 2 P = 0.000  
**H = 44.00 DF = 2 P = 0.000 (adjusted for ties)**

**Anexo 26.** Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “Número de carposporas por cistocarpos”.

### Kruskal-Wallis Test: Capacidad de esporulación versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Capacidad de esporulación

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancon	15	357591000	35.5	4.50
Mendieta	15	126678000	25.5	0.91
Paiján	15	10320000	8.0	-5.42
Overall	45		23.0	

H = 33.64 DF = 2 P = 0.000  
**H = 33.64 DF = 2 P = 0.000 (adjusted for ties)**

### Mann-Whitney Test and CI: Ancon, Paiján

	N	Median
Ancon	15	357591000
Paiján	15	10320000

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 339618599  
 95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (247158550,394465655)  
 W = 345.0  
 Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0000  
**The test is significant at 0.0000 (adjusted for ties)**

### Mann-Whitney Test and CI: Ancon, Mendieta

	N	Median
Ancon	15	357591000
Mendieta	15	126678000

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 168514203  
 95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (85081857,276947012)



W = 307.0  
 Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0011  
The test is significant at 0.0011 (adjusted for ties)

### Mann-Whitney Test and CI: Mendieta, Paiján

	N	Median
Mendieta	15	126678000
Paiján	15	10320000

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 116358013  
 95.4 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (92951326,203173074)  
 W = 345.0  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0000

**Anexo 27.** Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “Peso del alga fértil”. En este caso no se realizó la prueba de Mann-Whitney por no resultar significativa la prueba de Kruskal-Wallis.

### Kruskal-Wallis Test: Peso alga fertil versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Peso alga fertil

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancón	4	4.450	5.0	-1.02
Mendieta	4	5.050	9.5	2.04
Paiján	4	4.545	5.0	-1.02
Overall	12		6.5	

H = 4.15 DF = 2 P = 0.125  
H = 4.17 DF = 2 P = 0.124 (adjusted for ties)

\* NOTE \* One or more small samples

**Anexo 28.** Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Densidad relativa de esporas”.

### Kruskal-Wallis Test: Densidad relativa de esporas versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Densidad relativa de esporas

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancón	4	2784	9.0	1.70
Mendieta	4	2189	7.5	0.68
Paiján	4	1480	3.0	-2.38
Overall	12		6.5	

H = 6.00 DF = 2 P = 0.050

\* NOTE \* One or more small samples

### Mann-Whitney Test and CI: Ancón, Mendieta

	N	Median
Ancón	4	2784.0
Mendieta	4	2188.5

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 554.0  
97.0 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (-1095.9,1570.1)  
W = 21.0

**Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.2352**

### Mann-Whitney Test and CI: Ancón, Paiján

	N	Median
Ancón	4	2784.0
Paiján	4	1480.0

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 1144.0  
97.0 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (-335.1,2107.0)  
W = 25.0

**Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0303**

### Mann-Whitney Test and CI: Mendieta, Paiján

	N	Median
Mendieta	4	2188.5
Paiján	4	1480.0

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 674.0  
97.0 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (-77.9,1375.9)  
W = 25.0

**Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0303**

## Anexo 29. Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Densidad de carposporas”

### Kruskal-Wallis Test: Densidad de carposporas versus Localidades

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancón	4	1392000	9.0	1.70
Mendieta	4	1094250	7.5	0.68
Paiján	4	740000	3.0	-2.38
Overall	12		6.5	

**H = 6.00 DF = 2 P = 0.050**

\* NOTE \* One or more small samples

### Mann-Whitney Test and CI: Ancón, Paiján

	N	Median
Ancón	4	1392000
Paiján	4	740000

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 572000  
 97.0 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (-167500,1053500)  
 W = 25.0  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0303

### Mann-Whitney Test and CI: Ancón, Mendieta

	N	Median
Ancón	4	1392000
Mendieta	4	1094250

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 277000  
 97.0 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (-548000,785000)  
 W = 21.0  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.2352

### Mann-Whitney Test and CI: Mendieta, Paiján

	N	Median
Mendieta	4	1094250
Paiján	4	740000

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 337000  
 97.0 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (-39000,688000)  
 W = 25.0  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0303

## **Anexo 30. Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “Potencial reproductivo”**

### Kruskal-Wallis Test: Potencial reproductivo versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Potencial reproductivo

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancón	4	67500	9.6	2.12
Mendieta	4	54000	6.6	0.08
Paiján	4	40500	3.3	-2.21
Overall	12		6.5	

H = 6.26 DF = 2 P = 0.044  
H = 6.49 DF = 2 P = 0.039 (adjusted for ties)

## **Anexo 31. Prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la variable “Tasa de crecimiento” en el cultivo a partir de carposporas.**

### Kruskal-Wallis Test: Tasa de crecimiento versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Tasa de crecimiento

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancón	3	2.430	8.0	1.71
Mendieta	3	2.300	7.0	1.03
Paiján	4	1.585	2.5	-2.56
Overall	10		5.5	

H = 6.71 DF = 2 P = 0.035

### Mann-Whitney Test and CI: Ancón, Mendieta

	N	Median
Ancón	3	2.4300
Mendieta	3	2.3000

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 0.1300  
91.9 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (-0.0700,0.2200)  
W = 12.0  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 \neq \eta_2$  is significant at 0.6625

### Mann-Whitney Test and CI: Ancón, Paiján

	N	Median
Ancón	3	2.4300
Paiján	4	1.5850

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 0.8450  
94.8 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (0.6500,0.9901)  
W = 18.0  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0259

### Mann-Whitney Test and CI: Mendieta, Paiján

	N	Median
Mendieta	3	2.3000
Paiján	4	1.5850

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 0.7250  
94.8 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (0.6600,0.8300)  
W = 18.0  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0259

## **Anexo 32.** Prueba de Kruskal-Wallis para la variable número de talos *C. chamissoi* al final del cultivo a partir de carposporas

### Kruskal-Wallis Test: Supervivencia versus Localidades

Kruskal-Wallis Test on Supervivencia

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancón	3	2550	6.3	0.57
Mendieta	3	4675	8.7	2.17
Paiján	4	1680	2.5	-2.56
Overall	10		5.5	

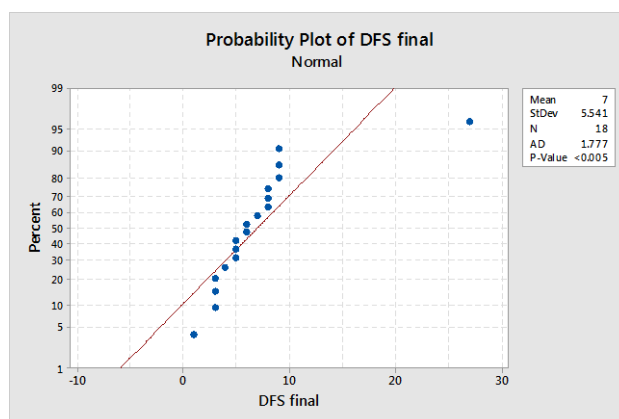
**H = 7.44 DF = 2 P = 0.024**

**Anexo 33.** Prueba de Kruskal-Wallis para la variable Supervivencia de *C. chamissoi* al final del cultivo a partir de carposporas.

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancón	3	4.000	5.0	-0.34
Mendieta	3	8.000	6.7	0.80
Paiján	4	4.000	5.0	-0.43
Overall	10		5.5	

H = 0.64 DF = 2 P = 0.727  
H = 0.67 DF = 2 **P = 0.716** (adjusted for ties)

**Anexo 34.** Prueba de Anderson Darling y Kruskal-Wallis para la variable número de DFS de *C. chamissoi* al final del cultivo vegetativo



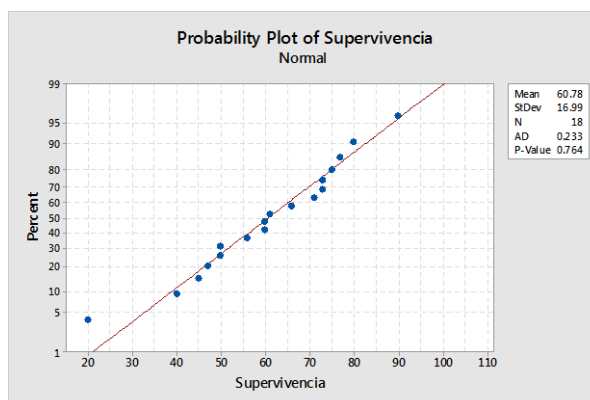
**Kruskal-Wallis Test: DFS final versus Localidades**

Kruskal-Wallis Test on DFS final

Localidades	N	Median	Ave Rank	Z
Ancón	5	6.000	8.7	-0.39
Mendieta	8	8.500	11.8	1.60
Paiján	5	4.000	6.7	-1.38
Overall	18		9.5	

H = 2.91 DF = 2 P = 0.234  
H = 2.96 DF = 2 **P = 0.228** (adjusted for ties)

**Anexo 35.** Prueba de Anderson-Darling y ANOVA para la variable Supervivencia de los DFS de *C. chamissoi* en un cultivo vegetativo.



**One-way ANOVA: Supervivencia versus Localidad**

Method

Null hypothesis All means are equal  
 Alternative hypothesis At least one mean is different  
 Significance level  $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Localidad	3	Ancón, Mendieta, Paiján

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Localidad	2	0.04957	0.02478	0.10	0.907
Error	24	6.04864	0.25203		
Total	26	6.09821			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.502023	0.81%	0.00%	0.00%

Means

Localidad	N	Mean	StDev	95% CI
Ancón	10	1.049	0.512	(0.721, 1.377)
Mendieta	8	1.148	0.524	(0.781, 1.514)
Paiján	9	1.060	0.470	(0.715, 1.405)

Pooled StDev = 0.502023

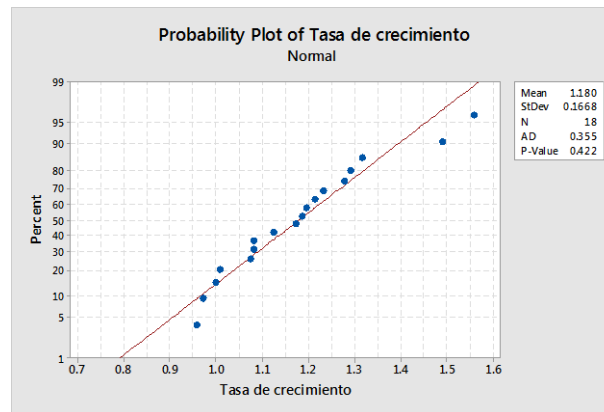
**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Localidad	N	Mean	Grouping
Mendieta	8	1.148	A
Paiján	9	1.060	A
Ancón	10	1.049	A

Means that do not share a letter are significantly different.

**Anexo 36.** Prueba de Anderson-Darling y un análisis de varianza (ANOVA) para la variable “tasa de crecimiento” de los DFS de *C. chamissoi* en un cultivo vegetativo.



### One-way ANOVA: Tasa de crecimiento versus Localidad

#### Method

Null hypothesis All means are equal  
 Alternative hypothesis At least one mean is different  
 Significance level  $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

#### Factor Information

Factor	Levels	Values
Localidad	3	Ancón, Mendieta, Paiján

#### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Localidad	2	0.06417	0.03209	1.12	0.351
Error	15	0.42845	0.02856		
Total	17	0.49262			

#### Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.169007	13.03%	1.43%	0.00%

#### Means

Localidad	N	Mean	StDev	95% CI
Ancón	5	1.2447	0.0900	(1.0836, 1.4058)
Mendieta	8	1.2278	0.2077	(1.1004, 1.3551)
Paiján	5	1.1019	0.1533	(0.9408, 1.2630)

Pooled StDev = 0.169007

## Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Localidad	N	Mean	Grouping
Ancón	5	1.2447	A
Mendieta	8	1.2278	A
Paiján	5	1.1019	A

Means that do not share a letter are significantly different.

**Anexo 37.** Prueba de Anderson-Darling y un análisis de varianza (ANOVA) para la variable “talla” de los DFS de *C. chamissoi* en un cultivo vegetativo.

## One-way ANOVA: Tamaño versus Localidades

Factor	Levels	Values
Localidades	3	Ancón, Mendieta, Paiján

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Localidades	2	0.07642	0.03821	0.39	<b>0.686</b>
Error	15	1.48163	0.09878		
Total	17	1.55805			

**Anexo 38.** Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “Número de carposporas asentadas/mm<sup>2</sup>”

## Kruskal-Wallis Test: Número de esporas versus Localidad

Kruskal-Wallis Test on Número de esporas

Localidad	N	Median	Ave Rank	Z
Ancón	4	7.500	9.6	2.12
Mendieta	4	6.000	6.6	0.08
Paiján	4	4.500	3.3	-2.21
Overall	12		6.5	

H = 6.26 DF = 2 P = 0.044

H = 6.49 DF = 2 P = 0.039 (adjusted for ties)



**Anexo 39.** Prueba de Mann-Whitney para la variable “Número de carposporas asentadas/mm<sup>2</sup>” entre las localidades de estudio

**Mann-Whitney Test and CI: Mendieta, Paiján**

	N	Median
Mendieta	4	6.000
Paiján	4	4.500

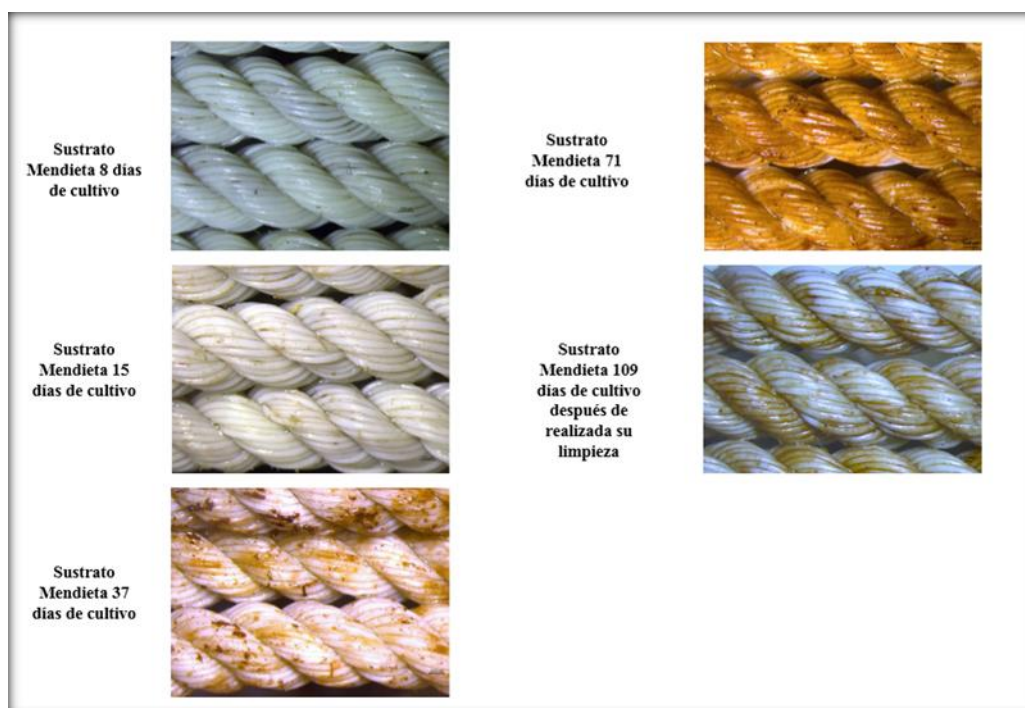
Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 1.500  
97.0 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (-1.001,4.001)  
W = 23.0  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.0970  
The test is significant at 0.0888 (adjusted for ties)

**Mann-Whitney Test and CI: Ancón, Mendieta**

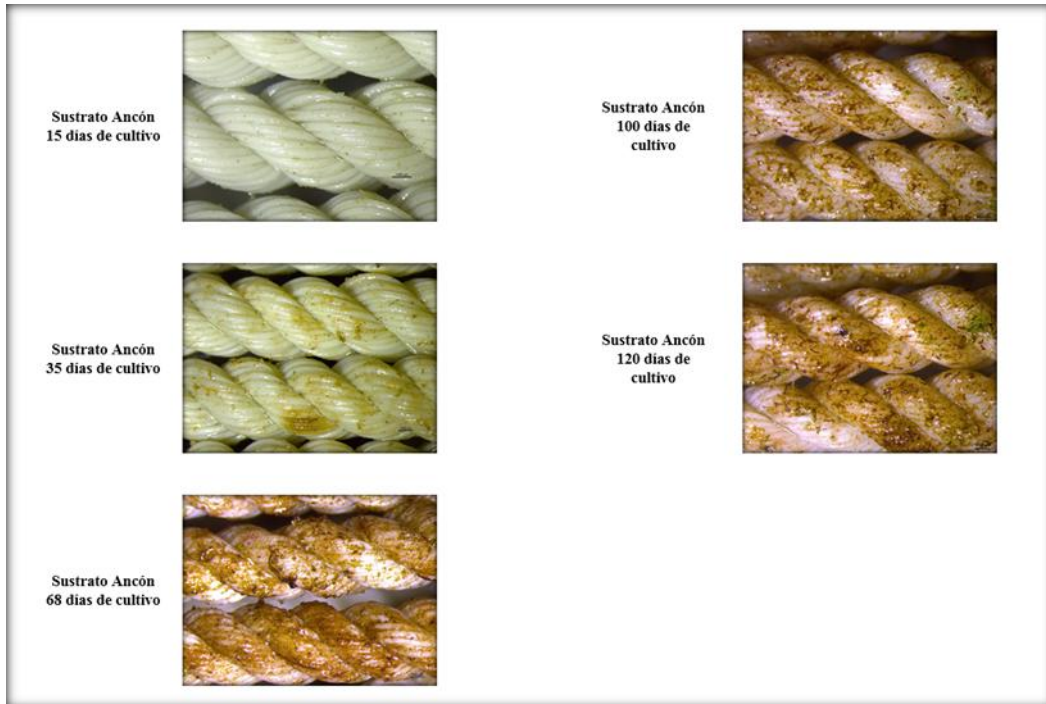
	N	Median
Ancón	4	7.500
Mendieta	4	6.000

Point estimate for  $\eta_1 - \eta_2$  is 1.500  
97.0 Percent CI for  $\eta_1 - \eta_2$  is (-2.001,5.001)  
W = 22.5  
Test of  $\eta_1 = \eta_2$  vs  $\eta_1 > \eta_2$  is significant at 0.1241  
The test is significant at 0.1169 (adjusted for ties)

**Anexo 40.** Formación de biofilm a lo largo del cultivo a partir de carposporas de Mendieta



**Anexo 41.** Formación de biofilm a lo largo de un cultivo a partir de carposporas de Ancón



**Anexo 42.** Formación de biofilm a lo largo de un cultivo a partir de carposporas de Paiján

