

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“EFECTO DE LA DENSIDAD DE SIEMBRA DE ESPORAS
SOBRE EL ASENTAMIENTO Y CRECIMIENTO EN LA FASE
CONCHOCELIS DE *Pyropia columbina*”**

Presentada por:

LUCERO ELIZABET ARBAIZA QUISPE

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGA

Lima – Perú

2021

La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EFECTO DE LA DENSIDAD DE SIEMBRA DE ESPORAS
SOBRE EL ASENTAMIENTO Y CRECIMIENTO EN LA FASE
CONCHOCCELIS DE *Pyropia columbina*”**

Presentada por:

LUCERO ELIZABET ARBAIZA QUISPE

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGA

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Dr. Jaime Humberto Mendo Aguilar
PRESIDENTE

Biol. Milagros del Rosario Chang La Rosa
MIEMBRO

Mg.Sc. Abelardo Calderón Rodríguez
MIEMBRO

Dr. Alfredo Salomón Rodríguez Delfín
ASESOR

Mg. Sc. Samuel Arbaiza Quispe
Co Asesor

DEDICATORIA

A mi madre.

La razón de todo.

Lo mejor de mi proviene de ti

A mis padres, todo lo que soy es gracias a ustedes.

Gracias por su apoyo, amor y fe.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi asesor Ph. D. Alfredo Salomón Rodríguez Delfín y a mi co-asesor Mg. Sc. Samuel Arbaiza Quispe, quienes me han estado apoyando desde que realicé mi proyecto de Tesina, gracias por su tiempo, por sus consejos y su dedicación. Así mismo quisiera agradecer al presidente de mi jurado Dr. Jaime Mendo Aguilar, por su paciencia, rigurosidad y dedicación, realmente ha contribuido en mi formación profesional y en la exigencia que tengo conmigo misma.

Por otra parte, quisiera agradecer a mi madre, quien ha sido mi soporte a lo largo de toda mi vida. Gracias por cada abrazo, por cada consejo. Todo lo que hago es por ti mamita. Así mismo quisiera agradecer a mi papá, pues gracias a él y a mi mamá pude acceder a una educación de calidad, la cual me permitió llegar hasta donde estoy.

No puedo dejar de mencionar a mi hermano Samuel, quien ha sido mi guía, mi mayor crítico y mi mejor amigo. Siempre has sido mi gran compañero Sami, me siento afortunada de tenerte como hermano. Quién lo diría, ahora trabajamos juntos, gracias por cada enseñanza que me has dado.

Quiero agradecer también a los demás miembros de mi familia, a mi hermano Emanuel a quien quiero mucho y a mi niño Terry de 11 años, quien también ha sido mi fiel compañero, brindándome esos abrazos reconfortables cada vez que estaba cansada. Todos y cada uno de ustedes han aportado en mis logros, por ello les estoy muy agradecida.

Querido Carlitos, tengo que dedicarte unas líneas de agradecimiento también porque has sido mi principal apoyo, mi compañero y mi confidente. Acompañándome en las colectas a Pisco, en las evaluaciones. Eres quien realmente me ha visto cansada y frustrada, sin embargo, siempre has estado brindándome tu apoyo incondicional, no tengo palabras para expresar lo agradecida que estoy contigo por haberme acompañado en esta etapa.

Finalmente quisiera mencionar lo orgullosa que me siento conmigo misma, de lo que estoy logrando y de lo fuerte que soy. Mamá, papá, familia, ustedes saben lo particularmente difícil que ha sido para mí. Sin embargo, he superado con mucho esfuerzo y dedicación cada obstáculo que he ido encontrando. Estoy realmente feliz y sigo buscando mi camino.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1. Importancia económica del recurso	3
2.2. Distribución y Taxonomía del género <i>Porphyra/ Pyropia</i>	4
2.3. Biología del género <i>Porphyra/Pyropia</i>	5
2.3.1. Ciclo de vida del género <i>Porphyra/Pyropia</i>	6
2.3.2. Naturaleza de la fase conchocelis	7
2.4. Cultivo de la fase conchocelis.....	8
2.4.1. Importancia del sustrato en el cultivo	8
2.4.2. Densidad de Siembra	9
2.4.3. Etapas de cultivo	9
2.4.4. Variables de cultivo	10
III. METODOLOGIA.....	14
3.1. Área Experimental.....	14
3.2. Etapa Pre Experimental	14
3.2.1. Preparación del sustrato.....	14
3.2.2. Implementación de las unidades experimentales	14
3.2.3. Colecta de Material Biológico.....	14
3.2.4. Diseño Experimental.....	15
3.3 Etapa Experimental	16
3.3.1. Preparación de la solución stock de cigotosporas	16
3.3.2. Inoculación de cigotosporas	16
3.3.3. Manejo del cultivo	16
3.3.4. Evaluación del asentamiento y germinación de cigotosporas	17

3.3.5. Evaluación del crecimiento de las colonias de fase conchocelis	17
3.3.6. Procesamiento de datos.....	18
3.4. Análisis estadístico de los datos	18
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	19
4.1. Asentamiento de cigotosporas	19
4.2. Germinación de las cigotosporas	21
4.3. Crecimiento de las colonias de la fase conchocelis	24
V. CONCLUSIONES.....	28
VI. BIBLIOGRAFÍA	30
VII. ANEXOS.....	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Condiciones de cultivo para el crecimiento de la fase conchocelis de las especies del género <i>Porphyra</i>	12
Tabla 2: Valores de asentamiento de las cigotosporas de <i>Pyropia columbina</i> obtenidos durante la primera semana de evaluación.....	20
Tabla 3: Valores de germinación de las cigotosporas de <i>Pyropia columbina</i> obtenidos durante la primera semana de evaluación.....	23
Tabla 4: Crecimiento de la fase de conchocelis de <i>Pyropia columbina</i> desde la semana 2 hasta la semana 8 (μm^2)	25
Tabla 5: Área de influencia de las colonias (cm^2) de la fase conchocelis.....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida del género <i>Porphyra/Pyropia</i>	7
Figura 2. Diseño experimental del cultivo de la fase conchocelis de <i>Pyropia columbina</i>	15
Figura 3. Asentamiento promedio de cigotosporas (espora/mm ²) de <i>Pyropia columbina</i> a las 48 horas de siembra. Las barras indican la desviación estándar por cada tratamiento.	19
Figura 4. Porcentaje de asentamiento de <i>Pyropia columbina</i> a las 48 horas de siembra. Las barras indican la desviación estándar por cada tratamiento.....	19
Figura 5. Densidad de cigotosporas germinadas por mm ² por cada tratamiento a los 7 días de siembra. Las barras indican la desviación estándar por cada tratamiento.....	22
Figura 6. Porcentaje de germinación de cigotosporas de <i>Pyropia columbina</i> . Las barras indican la desviación estándar por cada tratamiento.	22
Figura 7. Área de crecimiento de las colonias de la fase conchocelis de <i>Pyropia columbina</i> desde la semana 2 hasta la semana 8 de evaluación. Las barras indican la desviación estándar por cada tratamiento.....	25

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Valores promedio de las esporas asentadas por mm ²	39
Anexo 2: Valores promedio de la germinación de cigotosporas por mm ²	39
Anexo 3: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 2	40
Anexo 4: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 3.	40
Anexo 5: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 4.	41
Anexo 6: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 5.	41
Anexo 7: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 6.	42
Anexo 8: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 7.	42
Anexo 9: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 8.	43
Anexo 10: Valores promedio de las áreas de influencia de las colonias de conchocelis, desde la semana 6 hasta la semana 8.	43
Anexo 11: Análisis estadísticos del asentamiento de las cigotosporas	44
Anexo 12: Análisis estadísticos de la germinación de las cigotosporas	48
Anexo 13: Análisis estadísticos del crecimiento de las colonias de la fase conchocelis	52
Anexo 14: Análisis estadístico del área de influencia de las colonias de Conchocelis desde la semana 6 hasta la semana 8.	80
Anexo 15: Colecta de material biológico en Playa Lagunillas.....	85
Anexo 16: Selección de individuos reproductivos de <i>Py. columbina</i>	86
Anexo 17: Corte de áreas reproductivas	86

Anexo 18: Preparación del Stock concentrado de esporas (Inoculo inicial).....	87
Anexo 19: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 2.	88
Anexo 20: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 3.	90
Anexo 21: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 4.	92
Anexo 22: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 5.	94
Anexo 23: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 6.	96
Anexo 24: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 7.	98
Anexo 25: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 8.	100

RESUMEN

El presente estudio fue realizado, en la Universidad Nacional Agraria La Molina (Lima – Perú), entre los meses de junio y octubre del año 2020 con el objetivo de evaluar el efecto de la densidad de siembra de cigotosporas sobre el asentamiento y crecimiento de la fase conchocelis de *Pyropia columbina*. Para ello, se colectaron 10 kg de talos fértiles de *Pyropia columbina*, de playa Lagunillas en la Reserva Nacional de Paracas para la obtención de una solución concentrada de cigotosporas (915600 cigotosporas por ml). Se diseñó un experimento completamente al azar (DCA), con cuatro tratamientos: T1, T2, T3 y T4 correspondientes a las densidades de siembra: 50, 100, 150 y 200 ml de inóculo inicial (458×10^5 , 916×10^5 , 1370×10^5 , 1830×10^5 cigotosporas por ml respectivamente) y con 4 réplicas cada uno, es decir, un total de 16 unidades experimentales. Como sustratos naturales para el asentamiento, se utilizaron valvas de *Argopecten purpuratus* de 4cm^2 de área. Se observó una relación directa (positiva) entre las densidades de siembra y el asentamiento de cigotosporas, siendo el tratamiento T4 el que obtuvo un valor de cigotosporas asentadas (106472 por mm^2) significativamente mayor ($P < 0,005$) que los otros tratamientos. Por otra parte, el crecimiento de las colonias de la fase conchocelis mostraron una relación inversa (negativa) con las densidades de siembra; donde T2 tuvo un valor significativamente mayor ($P < 0,005$), respecto a los demás tratamientos, con un área de crecimiento de 10797.81um^2 . Los resultados han demostrado que las densidades de siembra altas tienen una relación directa con el asentamiento de cigotosporas, y una relación negativa con el crecimiento de las colonias de la fase conchocelis de *Pyropia columbina*.

Palabras claves: *Pyropia columbina*, cigotosporas, fase conchocelis, inculación, asentamiento.

ABSTRACT

The present study was carried out at the Universidad Nacional Agraria La Molina (Lima - Peru), between June and October 2020. The aim of this work was to evaluate the effect of density on settlement and growth of the conchocelis phase of *Pyropia columbina*. To do this, 10 kg of fertile stems of *Pyropia columbina* thalli were collected from Lagunillas beach in the National Reserve of Paracas and used to obtain a concentrated solution of zygospores (915600 zygospores per ml). A completely randomized design (CRD) was used, with four treatments: T1, T2, T3 and T4 corresponding to seeding densities: 50, 100, 150 and 200 ml of initial inoculum (458×10^5 , 916×10^5 , 1370×10^5 , 1830×10^5 spores per ml respectively) with 4 replicates each, that is, a total of 16 experimental units. As natural substrates for settlement, 4 cm² *Argopecten purpuratus* valves were used. A direct (positive) relationship was observed between seeding densities and zygospore settlement, with the T4 treatment obtained a significantly higher value ($P < 0.005$) with 106472 settled zygospores per mm². On the other hand, the growth of the colonies of the conchocelis phase showed an inverse (negative) relationship with respect to the seeding densities; where T2 had a significantly higher value ($P < 0.005$), with respect to the other treatments, with a colony growth area of 10797.81 um². These findings suggest that seeding densities have a direct relationship with settlement of zygospores, and a negative relationship with the growth of colonies of the conchocelis phase of *Pyropia columbina*.

Key words: *Pyropia columbina*, zygospores, conchocelis phase, inoculation, settlement.

I. INTRODUCCIÓN

Las algas constituyen un grupo de organismos acuáticos con metabolismo autótrofo, los cuales están provistos por un pigmento fotosintético primario, la clorofila a (Dreckmann et al., 2013). Se caracterizan por su elevado valor nutricional, debido a que poseen una alta concentración de proteínas, mucilagos, oligoelementos y vitaminas además de compuestos bioactivos con efectos positivos para la salud; es por ello que existe un creciente aprovechamiento de las algas en la alimentación humana (Quitral et al., 2012).

Las macroalgas de la familia Bangiaceae, *Porphyra* y *Pyropia*, son consideradas como una de las algas más valiosas de la maricultura, debido a que representan productos de mayor valor económico (US \$ 16 000 por tonelada de peso seco), respecto a otras macroalgas (Sahoo et al., 2002; Sahoo y Yarish, 2005; Mouritsen, 2013). Debido a su gran aporte nutricional, rico en proteínas y aminoácidos libres, además de su agradable sabor, estas algas son consumidas en los países asiáticos, especialmente en China, Japón y Corea, como un alimento tradicional conocido como nori, generando un excedente global de 1.5 billones de dólares (Jiaxin Chen y Pu Xu, 2009; Levine y Sahoo, 2010; Yang et al., 2017; FAO, 2018).

En nuestro país, *Py. columbina*, es conocida como "Cochayuyo" y ha sido consumida desde tiempos remotos hasta el día de hoy, siendo una de las tres algas más consumidas; se le consume en estado fresco y seco tanto en la costa como en la sierra (Sarmiento et al., 2019).

Por otra parte, además del uso de este recurso para el consumo directo, es considerado como un posible candidato para la sustitución de la harina de pescado debido a su alto contenido nutricional (Blouin et al., 2011; Redmond et al., 2014 y Sarmiento et al., 2019). Así mismo, se ha propuesto la utilización de *Pyropia* en cultivos multitróficos integrados al cultivo de mariscos o peces, ello debido a las altas tasas de absorción de nutrientes que posee este recurso (Chopin et al., 2001; Chung et al., 2002).

Las especies del género *Pyropia* posee un ciclo de vida bifásico con una alternancia de generaciones entre un gametofito folioso macroscópico, que se desarrolla principalmente en

invierno, y un esporofito filamentosos microscópico, conocido como conhocelis, que se desarrolla principalmente en verano (MacFarlane, 1966; Sahoo et al., 2002). La fase conhocelis es considerada la etapa más importante del ciclo de vida de *Pyropia*, debido a que provee de conchosporas que posteriormente originarán talos macroscópicos para su cultivo (Acleto y Zuñiga, 1998; Romo *et al.*, 2005; Lin et al., 2008). Sin embargo, el estudio de esta fase en la naturaleza resulta ser difícil, debido a que son organismos microscópicos y crípticos que habitan en zonas intermareales o submareales, fijados a sustratos calcáreos como las valvas de moluscos; por tal razón, su estudio y cultivo se realiza principalmente en ambientes controlados (Thomas, 2002; Lin et al., 2008; Dlaza, 2011).

En el Perú, no se han registrado estudios acerca del efecto que tiene la densidad de siembra de cigotosporas sobre el asentamiento y crecimiento de la fase conhocelis, por ello el desarrollo de una investigación en esta etapa, permitiría obtener información valiosa sobre esta fase crucial del cultivo, lo cual permitiría desarrollar la maricultura del alga roja *Pyropia columbina*.

Por lo tanto, el presente proyecto de investigación tuvo como finalidad evaluar el asentamiento de cigotosporas y el crecimiento de la fase conhocelis de *Pyropia columbina* a diferentes densidades de siembra, para determinar cuál es la densidad más adecuada para desarrollar el cultivo en nuestro país. Para ello se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar el asentamiento de las cigotosporas de *Pyropia columbina* a diferentes densidades de siembra.
- Evaluar el crecimiento de la fase conhocelis de *Pyropia columbina* a diferentes densidades de siembra.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. Importancia económica del recurso

En la actualidad las algas marinas de mayor producción para consumo humano directo son *Laminaria japónica* (kombu), *Undaria pinnatifida* (wakame) y *Porphyra/Pyropia* (nori); siendo estas últimas las de mayor valor económico (US \$ 16 000 por tonelada de peso seco) a comparación del wakame (US \$ 6 900 por tonelada de peso seco) y el kombu (US \$ 2 800 por tonelada de peso seco) (McHugh, 2003; FAO, 2016). Solamente, la producción anual de *Porphyra/Pyropia* en los principales países asiáticos como Japón, China y Corea del Sur, donde se cultivan estas algas, genera un valor económico de US \$ 1.3 mil millones por año (Blouin et al., 2011). Es así que el cultivo de *Porphyra/Pyropia* se ha consolidado como una de las industrias acuícolas más importantes de Asia; donde es considerada como el alga más valiosa de la maricultura (Sahoo et al., 2002; Sahoo y Yarish, 2005; Mouritsen, 2013). Debido a su gran aporte nutricional, estas algas son utilizadas para la producción de nori, un alimento seco ligeramente cocido rico en proteínas y aminoácidos libres (McHugh, 2003; Jiaxin Chen y Pu Xu, 2005) y a la vez *Porphyra* sp. es considerada un posible candidato para la sustitución de la harina de pescado debido a su alto contenido proteico y ácidos grasos insaturados (Blouin et al., 2011; Redmond et al., 2014). En ese mismo contexto, el consumo doméstico de estas algas rojas se ha incrementado drásticamente, convirtiéndose en un alimento aceptado por países de Europa y América, por lo que el cultivo de estas especies de algas se ha extendido a países de los cinco continentes (Sahoo et al., 2002; Jiaxin Chen y Pu Xu, 2005).

En nuestro país las algas denominadas como “cochayuyo” son identificadas como *Porphyra columbina* y son bastante consumidas por los pobladores de la costa central y sur, como fuente de alimento y de obtención de productos no alimenticios, dado que se consumen y comercializan en estado húmedo y seco (Acleto, 1984, 1986; PRODUCE, 2009). A pesar de ello, la legislación nacional vigente no contempla un control sobre su extracción, es por ello que el recurso se extrae indiscriminadamente de forma directa de las praderas naturales; lo cual ha generado una disminución en su estado natural (Hayashi et al., 2001; personal

coment Francisco Diaz Ramos, presidente de la Cooperativa de Pescadores Artesanales Algas Marinas).

2.2. Distribución y Taxonomía del género *Porphyra*/ *Pyropia*

Son un género cosmopolita que se distribuye desde regiones tropicales hasta regiones polares. (Romo et al., 2005; Acuña y Espinoza, 2014). Sin embargo, la mayor diversidad habita en las regiones con clima frío a templado principalmente en la zona intermareal, comúnmente entre el intermareal superior y la zona de rompimiento de olas (Jiaxin Chen y Pu Xu, 2005; Mouritsen, 2013; Acuña y Espinoza, 2014). En el Perú, las algas del género *Porphyra* que han sido reportadas por Ramírez y Santelices (1991), en base a características morfológicas, son: *P. columbina*, *P. pseudolanceolata*, *P. tenera*, *P. thuretii* y *P. umbilicalis*; las cuales se distribuyen a lo largo del litoral peruano en Piura, La Libertad, Lima, Ica y Arequipa. De manera particular, los autores indican la presencia de *P. columbina* en la Playa Lagunillas, Pisco- Ica. Por su parte Franco et al. (1995) amplía la distribución del alga desde Piura hasta el sur de Tacna.

Investigaciones realizadas por Sutherland et al. (2011) en base a análisis moleculares, puso en evidencia que muchas especies del género *Porphyra* estaban más emparentadas con el género *Pyropia*; así mismo, se amplió el número de géneros del orden Bangiales foliosas, el cual inicialmente solo comprendía a *Porphyra* y posterior a dicho estudio se dividiría en 7 géneros a parte de *Porphyra*: *Boreophyllum*, *Clymene*, *Fuscifolium*, *Lysithea*, *Miuraea*, *Pyropia* y *Wildemania*; ello evidenció la importancia del uso de herramientas moleculares, debido a que la morfología de muchas especies de estos géneros, aspectos biológicos y adaptativos son similares, lo cual dificulta su identificación taxonómica. Márquez (2019) evidenció la presencia del género *Pyropia* en Lima (Ancón, Pucusana, Huacho), Ica (San Juan de Marcona, Atico, Mendieta), etc. así como la presencia de especies de reciente divergencia del género *Porphyra* (*Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB) en Lima (Ventanilla, Ancón y Pucusana), en Ica (San Juan de Marcona), etc. Sin embargo, no se evaluó la zona de Lagunilla (Pisco- Ica), reportada anteriormente como zona de distribución de *Porphyra columbina* (ahora *Pyropia columbina*). Para fines de la presente investigación se utilizará el material biológico colectado en la zona de Lagunillas, cuya clasificación sistemática, según (Guiry, M.D & Guiry, G.M., 2020) es:

División: Rhodophyta

Subdivisión: Eurhodophytina

Clase: Bangiophyceae

Subclase: Bangiophycidae

Orden: Bangiales

Familia: Bangiaceae

Género: *Pyropia*

Especie: *Pyropia columbina*

Nombre vulgar: "Cochayuyo"

2.3. Biología del género *Porphyra/Pyropia*

Porphyra/Pyropia son un género de algas rojas que pertenecen a la clase *Bangiophyceae* que comprende individuos de morfología simple, monostromatico o diestromatico con formas redondas, ovadas, lineales o lanceoladas que pueden crecer de 5 a 35 cm de longitud (Sahoo et al., 2002; Dlaza, 2011; Gallardo, 2014). Drew (1949) demostró que la especie *Porphyra umbilicalis* presentaba dos fases distinguibles: una fase gametofítica haploide macroscópica (foliar) y una fase esporofítica diploide microscópica (filamentosa), siendo esta última fase considerada hasta antes de esa época como un organismo independiente: *Conchocelis rosea*. Este hallazgo dio lugar a una intensa investigación del ciclo vital de otras especies de este género en muchos lugares del mundo y revolucionó completamente la industria de *Porphyra* en Japón y posteriormente en el continente asiático (Acleto y Zuñiga, 1998; Thomas, 2002; Sahoo et al., 2002).

De manera particular, la especie *P. columbina* fue descrita porACLETO (1977), el cual indica que posee un talo laminar, agrupado o en roseta, lanceolada u oblonga lanceolada, cuyo color varía en una escala de marrones (claro, oscuro, violáceo, rojizo, etc.). Así mismo, debido a que es una especie presente en diversos hábitats, posee una variedad de formas, umbilicadas, divididas irregularmente o en roseta y si se encuentran en lugares expuestos al oleaje presentan laminas lanceoladas. Por otra parte, el talo puede alcanzar hasta 35 cm de longitud y 9 cm de ancho (ACLETO, 1977).

2.3.1. Ciclo de vida del género *Porphyra/Pyropia*

Las algas del género *Porphyra/Pyropia* presentan un ciclo de vida heteromórfico bifásico con una alternancia de generaciones entre el gametofito haploide macroscópico y el esporofito diploide microscópico llamado "conchocelis" (Sahoo et al., 2002 y Redmond et al., 2014) (Figura 1). Asimismo, los individuos de este género presentan estrategias reproductivas tanto sexuales como asexuales. En la reproducción sexual, el talo adulto presenta en los márgenes de las hojas células reproductivas femeninas (carpogonias) y masculinas (espermatogonias) que pueden estar presentes en un mismo talo (plantas monoicas) o en talos diferentes (plantas dioicas) (Thomas, 2002; Sahoo et al., 2002). En el medio natural, la fertilización ocurre cuando las olas del mar cubren el talo, permitiendo que los espermacios maduros producidos en las espermatogonias sean transportados y fijados a las carpogonias por medio de un tricogino rudimentario conocido como prototricogino. Una vez realizado la fusión de los núcleos de los gametos, el cigoto resultante se divide de manera repetitiva dando lugar a 2, 4, 8, 16, o 32 divisiones respectivas (Acleto y Zuñiga, 1998). El cigoto empieza a producir cigotosporangios que a su vez formaran esporas diploides conocidas como cigotosporas. Estas esporas son liberadas del talo, las cuales empezaran a deslizarse en forma de ameboide hasta asentarse al sustrato calcáreo de las valvas de los moluscos donde germinaran a estructuras filamentosas dentro del carbonato de calcio formando la fase conchocelis (Acleto y Zuñiga, 1998; Thomas, 2002). Los filamentos de la fase conchocelis crecen y desarrollan estructuras especializadas llamados conchosporangios, que producirán esporas conocidas como conchosporas. Estas esporas son liberadas desde las valvas donde se asentarán y germinarán en sustratos como rocas u otras algas, formando un talo joven haploide completando el ciclo de vida (Thomas, 2002; Sahoo et al., 2002; Redmond et al., 2014) (Figura 1).

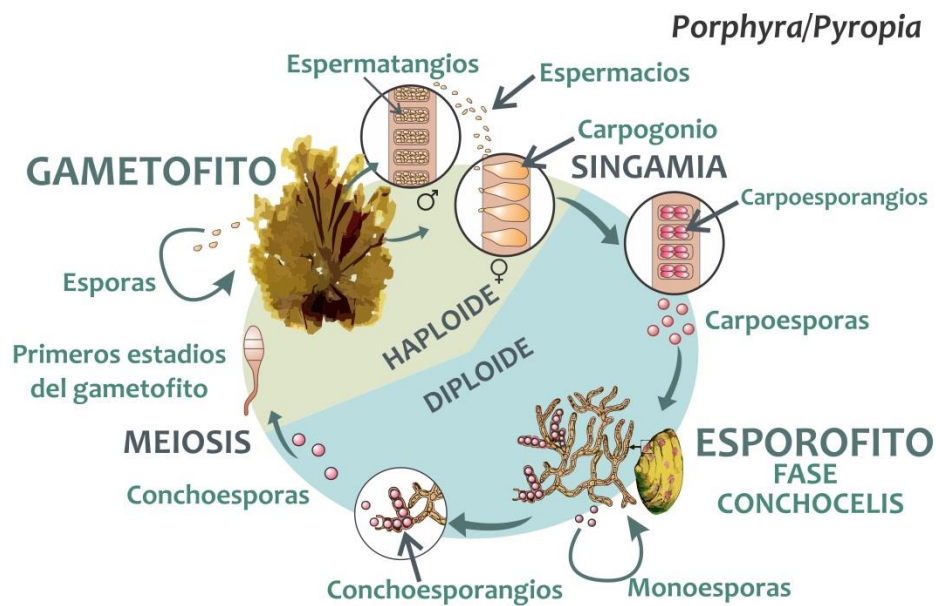


Figura 1. Ciclo de vida del género *Porphyra/Pyropia*.
FUENTE: elaborado por Erasmo Macaya H.

2.3.2. Naturaleza de la fase conchocelis

En la naturaleza, la fase microscópica filamentosa conchocelis se desarrolla en valvas de moluscos durante el verano; mientras que la fase foliar macroscópica se desarrolla principalmente en invierno (MacFarlane, 1966; Lu y Yarish, 2011; Redmond et al., 2014). Las cigotosporas penetran en el carbonato de calcio de las valvas donde generan un filamento de germinación y continúan creciendo en forma ramificada con apariencia de manchas de coloración rojiza (Romo y Paula, 1995; Thomas, 2002). Posteriormente, en el otoño a medida que disminuye la temperatura del agua y se acorta la longitud del día, los filamentos de la fase conchocelis desarrollan órganos reproductivos de paredes más gruesas que los filamentos vegetativos llamados conchosporangios que al liberar las conchosporas de la valva originan un nuevo talo foliar macroscópico (Melvin et al., 1986; Romo et al., 2005; Lu y Yarish, 2011; Redmond et al., 2014). Debido su naturaleza sésil el desarrollo del conchocelis es afectado por las condiciones ambientales específicas del agua que las bañan y la estacionalidad del año; tales como la duración del día, la temperatura del agua, la intensidad de luz y los nutrientes del medio (MacFarlane, 1966; Sahoo et al., 2002; Maggs y Callow, 2002; Neto et al., 2014).

2.4. Cultivo de la fase conchocelis

2.4.1. Importancia del sustrato en el cultivo

La colonización de la mayoría de las algas depende de la liberación de esporas donde estas localicen y establezcan contacto superficial con un sustrato adecuado para el proceso de asentamiento (Maggs y Callow, 2002; Granhag et al., 2007). El asentamiento requiere de la capacidad de las esporas para detectar y responder a las condiciones ambientales que favorezcan su supervivencia, siendo las respuestas más conocidas la topografía superficial del sustrato (respuesta timotáctica) y la luz (respuesta fototáctica) (Fletcher y Callow 1992). Los elementos de rugosidad proporcionan una mayor superficie de fijación y protección frente a las condiciones del mar, creando microambientes locales con flujos de agua reducidos, permitiendo que las esporas recién asentadas no se desprendan del sustrato (Fletcher y Callow, 1992; Maggs y Callow, 2002; Granhag et al., 2007).

Las observaciones realizadas en el campo han permitido asociar el desarrollo de la fase conchocelis de *Porphyra/Pyropia* con sustratos calcáreos marinos como las valvas de moluscos y cirrípedos (MacFarlane, 1966; Sahoo y Yarish, 2005; Lin et al., 2008; Lu y Yarish, 2011). Drew (1954) demostró que cualquier material calcáreo de origen vivo, no funcionaría como sustrato para el desarrollo de conchocelis. Sin embargo, su cultivo se desarrolla principalmente sobre valvas de moluscos debido a que proporcionan mayor practicidad para las operaciones de cultivo y la siembra de conchosporas en redes (Melvin et al., 1986; Waaland et al., 1987). Romo y Paula (1995) mencionan que deben usarse conchas enteras de preferencia de moluscos bivalvos, tales como ostras, pectinidos, mitílidos o almejas debido a que la alta resistencia y la poca convexidad resultan apropiados para la manipulación en ensayos de cultivos masivos de *Porphyra* sp.

En el Perú, existen varios bivalvos comerciales que podrían ser utilizados como sustrato para el desarrollo de la fase conchocelis. Por lo general, el cultivo de esta fase se desarrolla sobre valvas de ostras debido a que abundan en el continente asiático producto de los centros de cultivo (Sahoo y Yarish, 2005). Por ejemplo, la ostra del Pacífico (*Striostrea prismática*) oriunda del Perú es un bivalvo poco abundante debido a que se extrae solo en el departamento de Piura y no existen cultivos comerciales. Sin embargo, existen otros moluscos comerciales de mayor disponibilidad como son la concha de abanico (*Argopecten purpuratus*), la almeja (*Gari solida*) y el choro (*Aulacomya atra*). Siendo la concha de abanico el bivalvo más abundante del país dado que se distribuye por todo el litoral y existen

centros de cultivo tanto en la zona norte y sur (IMARPE, 2016). Además, las valvas de la concha de abanico presentan costillas radiales muy notorias que la convierten en un sustrato adecuado para el asentamiento de las cigotosporas de *Porphyra/Pyropia*.

2.4.2. Densidad de Siembra

La competencia intraespecífica por los recursos, especialmente por la luz y los nutrientes, en las poblaciones de algas que crecen activamente puede resultar en un crecimiento reducido y un aumento de la mortalidad (Conitz et al., 2013). La fase conchocelis de *Porphyra/Pyropia* se inicia cuando las cigotosporas se asientan sobre las valvas de moluscos, penetrando en el carbonato de calcio y generando filamentos de germinación (Drew, 1954; Joly y Yamaguishi, 1963; Romo y Paula, 1995). De manera que los filamentos crecen en forma ramificada y paralela a la superficie de las valvas (Romo y Paula, 1995; Frazer y Brown, 1995).

2.4.3. Etapas de cultivo

La fase conchocelis constituye la etapa más importante en el desarrollo del cultivo comercial de *Porphyra* sp. debido a que provee conchosporas que originarán talos macroscópicos que serán cultivados en el mar o en tanques en tierra (Acleto y Zuñiga, 1998; Romo et al., 2005; Dlaza, 2011). El cultivo de esta fase se desarrolla generalmente sobre valvas de ostras puestos el fondo de tanques poco profundos llenos con agua de mar donde se tiene lugar a la siembra (MacFarlane, 1966; Sahoo y Yarish, 2005). Presenta además diferentes etapas, tales como la liberación y asentamiento de cigotosporas, el crecimiento de los filamentos de conchocelis, la maduración y formación de conchosporangios, y la liberación de conchosporas (Joly y Yamaguishi, 1963; Etcheverry y Collantes, 1977).

a. Inoculación de cigotosporas

La inoculación de cigotosporas consiste en propiciar el asentamiento y germinación de las cigotosporas en un sustrato natural y/o artificial. Existen dos métodos de siembra o inoculación de las valvas. El método preferido es utilizar finos fragmentos de filamentos vegetativos de conchocelis de crecimiento libre, sin embargo, este método requiere grandes masas de con inoculo inicial (Melvin et al., 1986). El otro método, es la inoculación directa de las valvas mediante una suspensión de esporas liberada de trozos fértiles de *Porphyra/Pyropia* que es vertido en los tanques de siembra (Melvin et al., 1986; Sahoo y Yarish, 2005). Los trozos fértiles de *Porphyra/Pyropia* poseen cigotosporangios que liberan las cigotosporas, las cuales poseen una estructura redondeada con un diámetro que varía

entre 8 a 20 μm (Joly y Yamaguishi, 1963; Krishnamurthy, 1969; Etcheverry y Collantes, 1977; Sidirelli-Wolff, 1992). Estas esporas se asientan sobre las valvas y posteriormente germinan perforando las valvas lateralmente para dar uno, dos o tres filamentos estrechos que se alargan gradualmente (Drew, 1954; Joly y Yamaguishi, 1963; Etcheverry y Collantes, 1977).

Con base en ello, la inoculación de esporas debe realizarse cuando el agua del cultivo se encuentre en condiciones de reposo, pues los movimientos turbulentos de los flujos de agua pueden afectar negativamente al asentamiento de las esporas (Granhag et al., 2007).

b. Crecimiento de conchocelis

El crecimiento de la fase conchocelis inicia con un patrón irregular de ramificación parecida a los micelios de los hongos, producto del crecimiento vegetativo que se visualiza como manchas de color rojo intenso (Etcheverry y Collantes, 1977). El periodo de crecimiento de los filamentos de conchocelis varía entre 5 a 6 semanas después de la germinación de las cigotosporas (Chen et al., 1970; Joshi et al., 1992). Estudios de Sidirelli-Wolff (1992) demostraron que el crecimiento vegetativo de la fase conchocelis de *Porphyra leucosticta* cultivado bajo condiciones de días largos, fue más rápido que el de los filamentos cultivados bajo días neutros y días de duración más corta (Tabla 1). En esta etapa, los filamentos de conchocelis forman estructuras reproductivas, filamentos únicos ramificados conocidos como conchosporangios que portan las conchosporas que originan el talo haploide (Joly y Yamaguishi, 1963; Etcheverry y Collantes, 1977).

2.4.4. Variables de cultivo

Los variables de cultivo para un desarrollo óptimo de cualquier tipo de alga deben ser similares a las variables encontradas en su hábitat natural (Frazer y Brown, 1995). Sin embargo, el cultivo de esta fase resulta ser compleja debido a que las variables de cultivo presentan amplios márgenes de variación dado que las algas del género *Porphyra* son organismos muy estacionales (MacFarlane, 1966; Romo et al., 2005; Redmond et al., 2014) (Tabla 1 y 2). A pesar de ello, parámetros ambientales como luz, temperatura y fotoperiodo que son los más importantes en el ciclo de vida de *Porphyra/Pyropia* pueden ser manipuladas en condiciones de laboratorio (Nam-Gil, 1999; Sahoo et al., 2002).

a. Temperatura

En condiciones de cultivo, la temperatura es una variable importante dado que determina las tasas de crecimiento y supervivencia de los organismos (Dlaza, 2011; Neto et al., 2014). *Porphyra/Pyropia* es afectada por la temperatura del agua condicionando su distribución estacional (Dlaza, 2011; Acuña y Espinoza, 2014; López-Vivas et al., 2014). Así mismo, la temperatura influye en el crecimiento y maduración del conchocelis, así como en la liberación de las conchosporas (MacFarlane, 1966). En las costas de Perú, la distribución y variación de la temperatura del agua de mar está influenciado principalmente por las corrientes oceánicas y la radiación solar. En la zona sur, la temperatura alcanza valores promedio de 20-21 °C en la época de verano y 15-16 °C en invierno, mientras que en el norte las temperaturas pueden alcanzar los 25 °C (Zuta y Guillen 1970; Morón 2000). Estos parámetros de temperatura son los que han propiciado el desarrollo de las praderas naturales de *Porphyra/Pyropia* en el intermareal rocoso, pues la temperatura óptima para su desarrollo es de 15 a 20 °C (Avila et al., 1985).

b. Irradiancia

El termino irradiancia se refiere a la cantidad de luz o radiación fotosintéticamente activa (PAR) que cae sobre un área particular y se mide en micromoles de fotones por metro cuadrado por segundo ($\mu\text{mol fotones/m}^2 \text{ s}$ o $\mu\text{E/m}^2 \text{ s}$) (Dlaza, 2011). La fase conchocelis habita en ambientes intermareales o submareales en época de verano donde su crecimiento y supervivencia está ligado a periodos prolongados de luz submarina tenue (Clokier y Boney, 1980; Lin et al., 2008). A pesar de ello, en condiciones de laboratorio se ha observado que el desarrollo del conchocelis se da en amplios márgenes de luz, desde 40 a 100 $\mu\text{mol fotones/m}^2 \text{ s}$ (Avila et al., 1985; Waaland et al., 1987; Frazer y Brown, 1995) (Tabla 1 y 2). Dado que los requisitos de luz para las diferentes especies se encuentran ligado a su posición geográfica, con intensidades más bajas en las regiones polares e intensidades más altas en las regiones cálidas (Roleda et al. citado por Dlaza, 2011). En un laboratorio de cultivo de conchocelis se utiliza luz artificial. En ese aspecto, generalmente se utilizan bombillas fluorescentes que proporcionen luz blanca fría por ser de alto rendimiento y simular la luz solar natural (Redmond et al., 2014).

c. Fotoperiodo

El fotoperiodo se refiere a la proporción diaria de horas de luz: oscuridad a la que las algas marinas están expuestas durante un período de 24 horas (Dlaza, 2011). La fase conchocelis al desarrollarse principalmente en época de verano está sometido a días largos en su etapa de crecimiento (16 horas de luz y 8 horas de oscuridad) (Clokie y Boney, 1980; Sidirelli-Wolff, 1992). Además, el fotoperiodo no solo afecta el crecimiento sino también la maduración y liberación de esporas que se producen tanto en la fase conchocelis como la fase foliar (MacFarlane, 1966) (Tabla 1).

Tabla 1. Condiciones de cultivo para el crecimiento de la fase conchocelis de las especies del género *Porphyra*

Variable	Rango	Especies	Autores
Temperatura	15-20 °C	<i>P. columbina</i> ; <i>P. torta</i> ; <i>P. hollenbergii</i>	Avila et al. 1985; Waaland et al. 1987; Frazer y Brown 1995; López-Vivas et al. 2014
Irradiancia	40-100 μmol fotones/ m^2 s	<i>P. columbina</i> ; <i>P. torta</i> ; <i>P. hollenbergii</i>	Avila et al. 1985; Waaland et al. 1987; Frazer y Brown 1995; Romo y Paula 1995; Sahoo y Yarish 2005; López-Vivas et al. 2014
Fotoperiodo	12Luz:12Oscuridad; 14Luz:10Oscuridad o 16Luz:8Oscuridad.	<i>P. columbina</i> ; <i>P. torta</i> ; <i>P. leucosticta</i> ; <i>P. hollenbergii</i>	Avila et al. 1985; Waaland et al. 1987; Sidirelli-Wolff 1992; Frazer y Brown 1995; Sahoo y Yarish 2005; López-Vivas et al. 2014

d. Nutrientes

Los nutrientes presentes en los cuerpos de agua se derivan de la entrada o de la descomposición de la materia orgánica dentro de los sedimentos (Kavishe 2015). Los nutrientes esenciales que el alga requiere son los macronutrientes (N, P, K) micronutrientes (Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, etc.) y vitaminas; sin embargo, el N y el P son los elementos primordiales para el crecimiento del alga (Benkaddour, 2006). Los principales nutrientes que limitan el crecimiento de *Porphyra/Pyropia* en condiciones de cultivo son el nitrato y el fosfato debido a que se encuentran en concentraciones bajas en el agua de mar (Dlaza 2011; Neto *et al.* 2014). En ese sentido, los medios de cultivo más utilizados para cultivo en laboratorio de la fase conchocelis son las sales inorgánicas de grado analítico como Von Stoch o Provasoli debido a que enriquecen el medio de cultivo con elementos traza y

vitaminas (Pacheco-Ruiz et al. 2004; Dlaza 2011). Sin embargo, en cultivos comerciales de algas resulta una alternativa costosa, por lo que se prefiere utilizar como fuente alternativa a las sales inorgánicas de grado analítico los fertilizantes agrícolas. Según Romo et al. (2005) para el crecimiento de conchocelis se utiliza como fuente de nutrientes el fertilizante agrícola Bayfolan a una concentración de 1 ml por litro de agua de mar, el cual contiene 11% de N, 8% de P_2O_5 y 6% de K_2O , por litro, además de microelementos, Vitamina B1, promotores de crecimiento (auxinas) y sustancias tampón (BAYER Crop Science, 2020).

III. METODOLOGIA

3.1. Área Experimental

El trabajo experimental del proyecto se realizó en el Laboratorio de Biología Aplicada (LBA) ubicado en las instalaciones del Centro Modelo de Tratamientos Residuos (CEMTRAR) de la Universidad Nacional Agraria La Molina, distrito La Molina, Lima, Perú

3.2. Etapa Pre Experimental

3.2.1. Preparación del sustrato

Como sustrato de fijación se utilizaron valvas de *Argopecten purpuratus* en buenas condiciones y con coloración blanquecina en la parte cóncava, para asegurar mayor visibilidad para su evaluación en el estereoscopio. Luego, se procedió a seccionar un área plana de la valva de 4cm² de área, Así mismo, la pequeña superficie extraída fue tratada con un lápiz con punta de acero con el fin de homogenizar la rugosidad en toda el área.

Posterior a ello, los trozos de las valvas extraídos fueron lavados y cepillados con detergente. Para luego ser sumergidos en una solución de ácido clorhídrico al 5% por 12 horas. Finalizado el tiempo de tratamiento, las valvas fueron lavadas con abundante agua destilada y secadas en una estufa a 60 °C, según lo recomendado por Romo y Paula (1995).

3.2.2. Implementación de las unidades experimentales

Las unidades experimentales consistieron en envases plásticos de 350 ml de capacidad, los cuales fueron lavados con detergente, desinfectados con hipoclorito de sodio al 0.5% por 15 min, luego remojados en abundante agua. Posterior a ello, dentro de los envases ya secos, se procedió a colocar cuatro trozos de la valva de *Argopecten purpuratus* (Concha de abanico) cuyas dimensiones eran de 4cm².

3.2.3. Colecta de Material Biológico

Se colectaron aproximadamente 10 Kg. de talos fértiles de *Pyropia columbina* de la zona rocosa denominada Santa Elena de la Playa Lagunillas, ubicada en la Bahía de Paracas

(13°49'36"S; 76°16'22"O) en la provincia de Pisco, mediante extracción manual. En esta etapa se contó con el apoyo de los miembros de la Cooperativa de Trabajadores Pesqueros Artesanales Algas Marinas (COTRAPALMAR). Una vez colectado el material biológico, fue transportado al laboratorio en bolsas herméticas sin agua dentro de en un recipiente con hielo para reducir el estrés de algas durante el transporte, según lo sugiere Redmond et al. (2014).

3.2.4. Diseño Experimental

Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos de densidades de siembra (cigosporas por ml): T1= 229000, T2= 458000, T3= 687000 y T4= 916000 ml del inóculo inicial (Número de cigotosporas/volumen de solución), proveniente de 20 gramos de trozos fértiles de *Pyropia columbina*. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones, totalizando 16 unidades experimentales, dentro de cada unidad experimental se colocó cuatro pedazos de valva de *Argopecten purpuratus*, cuyas dimensiones fueron de 4 cm² de área, tal como se muestra en la Figura 2.

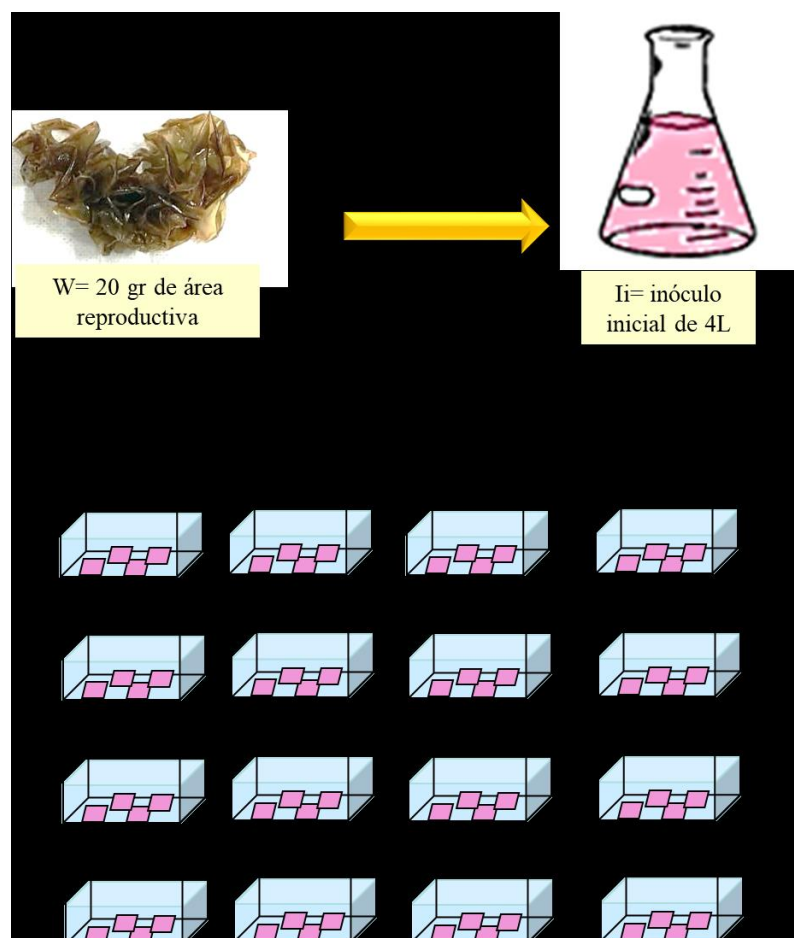


Figura 2. Diseño experimental del cultivo de la fase conhocelís de *Pyropia columbina*.

3.3 Etapa Experimental

3.3.1. Preparación de la solución stock de cigotosporas

Una vez trasladado el material biológico en el laboratorio, se procedió a limpiar los talos fértiles con agua de mar esterilizada mediante el uso de un pincel. Luego, se utilizó los paños secantes (tipo Wypall) para eliminar la humedad existente en los talos. Posterior a ello, con la ayuda de un bisturí, se cortaron cuidadosamente las áreas reproductivas de los márgenes de la fronda, hasta obtener un peso acumulado de 20 gr. de estas áreas. Después, los trozos fértiles cortados fueron estresados para inducir la liberación de las cigotosporas. Para ello, se colocaron en placas Petri y fueron cubiertos con papel aluminio para posteriormente ser puestos en un refrigerador a 4° C por 12 horas. Finalizado el tiempo, los trozos fértiles fueron colocados en un matraz con 4L de agua de mar (traída de la misma playa de colecta), a la cual previamente se le había agregado agua destilada para llegar a un pH óptimo de 35 ppm y posteriormente se le esterilizó mediante una autoclave de la marca BIOGEN de 30 L. Dicho matraz se mantuvo a 15 °C durante 4 a 5 horas para que se produzca la liberación de cigotosporas. Finalizado el tiempo, se agitó suavemente el matraz y se observó una coloración rojiza del agua de mar lo que indico que se había producido la liberación de las cigotosporas (Melvin et al., 1986; Romo y Paula 1995; Sahoo y Yarish, 2005). Finalmente, se determinó la densidad total de cigotosporas en la solución en la cámara Sedgewick Rafter.

3.3.2. Inoculación de cigotosporas

Se inoculó cada unidad experimental con una suspensión de cigotosporas liberadas de los trozos fértiles de *Py. Columbina*, de acuerdo a cada tratamiento indicado en la Figura 2. De esta manera se procedió a enrasar a un volumen final de 200 ml con agua de mar previamente esterilizada, a los tratamientos T1, T2 y T3 cuyos valores de inculo inicial eran 50ml, 100ml y 150 ml (con densidades de siembra de 2.29×10^5 , 4.58×10^5 , 6.87×10^5 y 9.16×10^5 cigotosporas por ml respectivamente). De esta manera, las unidades experimentales fueron puestas en la cámara de germinación en completo reposo, con la finalidad de que las cigotosporas se asienten y germinen sobre los trozos de las valvas de concha de abanico. En esta etapa no se le agregó el biofertilizante Byfolan.

3.3.3. Manejo del cultivo

Las unidades experimentales fueron colocadas en la cámara de germinación, posterior a la inoculación de cigotosporas, y se mantuvieron a un fotoperiodo de días largos (16 :8) (L/O),

temperatura de 16°C e irradiancia de 2000 Lux. Se midieron los parámetros de pH, T° C y salinidad, 2 veces por semana con un multiparámetro portátil (marca BANTE, modelo 900P), para asegurar que las condiciones del cultivo sean las adecuadas. Así mismo, durante el cultivo se realizaron recambios semanales del 100% del medio de cultivo para lo cual se utilizó agua de mar esterilizada (filtrada y autoclavada), la cual presentaba los parámetros adecuados mantenidos durante toda la etapa del cultivo (pH= 7-8, T° C= 15-16 y una salinidad = 35 – 36 ppm). Así mismo, por cada recambio de medio de cultivo, el agua de mar era enriquecida con 200µl /L del fertilizante foliar comercial Bayfolan Forte® previamente esterilizado por filtración; el cual contiene macronutrientes (11% de N, 8% de P₂O₅ y 6% de K₂O), micronutrientes además de Vitamina B1, promotores de crecimiento (auxinas) y sustancias tampón.

3.3.4. Evaluación del asentamiento y germinación de cigotosporas

Para determinar el número de cigotosporas asentadas por mm², se realizó una evaluación a las 48 horas después de la inoculación de la solución de cigotosporas. Para ello, se retiraron cuidadosamente, con ayuda de unas pinzas, todos los trozos de las valvas colocadas al fondo del recipiente en placas Petri estériles para su evaluación en el estereoscopio trinocular (marca MOTIC, modelo SMZ-171) con un grado de aumento de 5X. De esta manera se tomaron fotos en un área cuadrangular de 15000 µm² y se realizaron cinco conteos al azar por cada valva, en regiones de alta densidad según lo indicado por Pariona y Gil-Kodaka (2011). Posterior al conteo se realizó el primer recambio del 100% del medio de cultivo y fueron puestos nuevamente en las cámaras de cultivo. Por otro lado, la evaluación de la germinación se realizó a los 7 días después de haber realizado la inoculación de las cigotosporas; el criterio para su identificación fue la observación del tubo de germinación, el cual podía observarse a manera de un filamento sin bifurcación. Por lo tanto, para evaluar la germinación de las cigotosporas, se realizó el mismo procedimiento utilizado para la medición del asentamiento.

3.3.5. Evaluación del crecimiento de las colonias de fase conchocelis

La evaluación de las áreas de crecimiento de las colonias de la fase conchocelis se realizaron a partir de la segunda semana (correspondiente al 2do recambio de agua), debido a que, a partir de esa fecha, se pudo observar agregados (colonias) de esta fase en etapas iniciales de desarrollo. Para ello, se evaluó el área cubierta por la colonia, en un área cuadrangular de 15000 µm² haciendo uso del estereoscopio trinocular MOTIC para la toma de fotos, con un

aumento de 5X; se tomó 10 fotos por cada trozo de valva. Esta medición se realizó semanalmente antes del recambio del medio de cultivo.

Por otra parte, a partir de la 6ta semana de evaluación, el área de influencia de las colonias de la fase conchocelis fue evaluada directamente sin la utilización de fotografías ni aumento en el estereoscopio dado que, para esta etapa, las colonias de la fase conchocelis formaban manchas rojas distinguibles a simple vista. Para la determinación del área de influencia se tomaron fotografías de los trozos de las valvas (de 4cm²) con una cámara de alta resolución.

3.3.6. Procesamiento de datos

Las imágenes tomadas en el proceso de evaluación de asentamiento, germinación de cigotosporas y crecimiento de las colonias de la fase conchocelis fueron procesadas con el programa MOTIC PLUS 3.0, para poder realizar el conteo de cigotosporas asentadas y determinar la densidad de asentamiento, así mismo, las áreas de crecimiento fueron evaluadas con el mismo programa para determinar la tasa de crecimiento. Por otra parte, las áreas de influencia de las colonias se evaluaron con el programa FIJI ImageJ, que nos permite analizar fotografías y cuantificar el tamaño real de dichas áreas, para poder corroborar la tendencia en el crecimiento.

3.4. Análisis estadístico de los datos

Los datos obtenidos respecto al asentamiento, germinación y las áreas de crecimiento de las colonias de la fase conchocelis, fueron sometidos a la prueba estadística ANOVA de un solo factor (DCA), debido a que cumplieron los supuestos de: normalidad de los errores (prueba de Anderson Darling) y homocedasticidad (Prueba de Bartlett). Posteriormente, se realizó la prueba de Tukey en la que se comparó por pares cada tratamiento con la finalidad de determinar cuál fue el mejor.

Por otra parte, para la evaluación de los datos pertenecientes al área de influencia de las colonias de conchocelis (área de crecimiento total en el sustrato), se realizó un modelo lineal mixto, seleccionando el modelo más adecuado con los valores del criterio de Akaike (AIC), Schwarz (BIC). Después se procedió a realizar la prueba de Hipótesis marginales y finalmente se procedió a realizar una prueba LSD FISHER, para determinar cuál fue el tratamiento que generó mayor área de influencia.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Asentamiento de cigotosporas

Los valores de asentamiento de cigotosporas de *Pyropia columbina* fueron para T1= 26920, T2=55876, T3= 80363.6 y T4= 106472 cigotosporas por mm² y mostraron diferencias significativas entre sí (P<0,05) (Tabla 2).

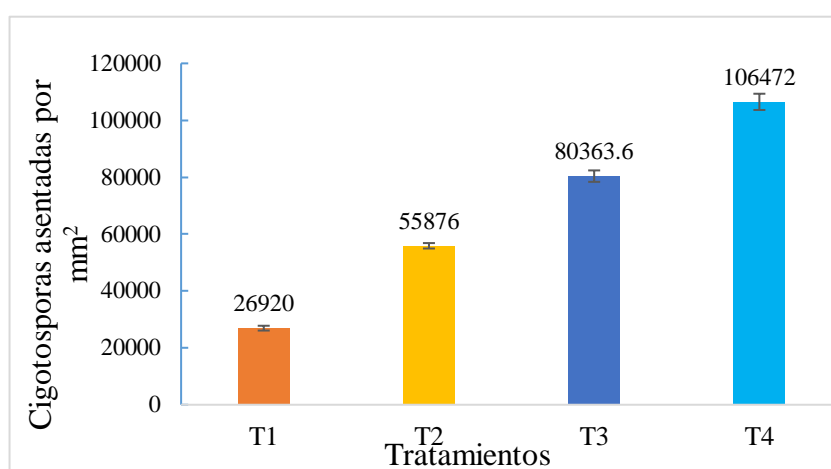


Figura 3. Asentamiento promedio de cigotosporas (espora/mm²) de *Pyropia columbina* a las 48 horas de siembra. Las barras indican la desviación estándar por cada tratamiento.

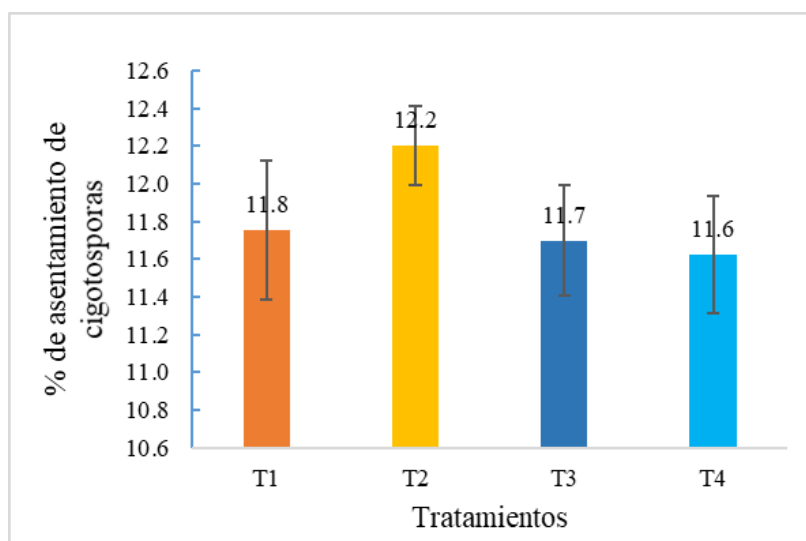


Figura 4. Porcentaje de asentamiento de *Pyropia columbina* a las 48 horas de siembra. Las barras indican la desviación estándar por cada tratamiento.

Tabla 2: Valores de asentamiento de las cigotosporas de *Pyropia columbina* obtenidos durante la primera semana de evaluación

Tratamientos	Repeticiones	Densidad de siembra (esporas/ ml)			Asentamiento de cigotosporas por mm ²			% Asentamiento de cigotosporas		
		D	D.E	X	A	X	D.E	%	D.E	X
T1	R1	245700			26320			11.5		
	R2	217200	13860.5	229000	27968	26920 ^d	843.3	12.2	0.4	11.8
	R3	235100			26160			11.4		
	R4	218000			27232			11.9		
R1	445000	56976			12.4					
T2	R2	456100	11512.6	458000	55440	55876 ^c	953.5	12.1	0.2	12.2
	R3	473000			56288			12.3		
	R4	457900			54800			12.0		
	R1	687900			82520			12.0		
T3	R2	682160	10351.2	687000	78680	80363.6 ^b	2011.2	11.5	0.3	11.7
	R3	701000			78620.8			11.4		
	R4	676940			81633.6			11.9		
	R1	899400			105857			11.6		
T4	R2	930000	19038.9	916000	107999	106472 ^a	2853.8	11.8	0.3	11.6
	R3	899800			109280			11.9		
	R4	934800			102752			11.2		

a>b>c>d: así mismo las letras diferentes dentro de una misma fila difieren significativamente ($\alpha=0.05$).
 Obtenido de la prueba Tukey (**ANEXO 11**).
 D.E= Desviación Estándar, X= Promedio, D= valores individuales de densidad de siembra, A= valores individuales de densidad de siembra.

Esta relación positiva entre la densidad de siembra y el asentamiento de cigotosporas de *Pyropia columbina* (Tabla 2) concuerda con los resultados obtenidos por Cotniz et al. (2013), quienes evaluaron el efecto de 3 densidades de siembra de *Pyropia torta*, expresados en peso de conchocelis (0,002; 0,02 y 0,2 gr.), sobre el asentamiento de conchosporas y obtuvieron como resultado un mayor número de esporas asentadas por cm². Así mismo, estudios realizados por Vásquez y Vega (2001) y Arbaiza (2016) demostraron que a mayor número disponible de esporas (soluciones de esporas) se obtuvo un mayor asentamiento de carpósporas de *Chondracanthus chamissoi*, sin embargo, el rendimiento del proceso de asentamiento resultó muy bajo (cerca al 5%). Similares resultados han sido obtenidos en el presente experimento (Figura 4, Tabla 2). Este rendimiento de asentamiento evidenciado se debe a la alta mortalidad de las esporas ampliamente reportado por diversos autores (Santelices, 1990; Ávila et al., 1999; Romo et al, 2001; Arbaiza 2016 y Hebe, 2018). Según Santelices (1990), esto puede deberse a factores intrínsecos de las esporas asociados a su formación y desarrollo anormal lo que afectaría su viabilidad. En adición a ello, estudios

microscópicos realizados a las esporas, evidenciaron que el cambio de presión del contenido celular y/o del medio, puede generar lisis celular lo cual reduce la cantidad de esporas viables para el asentamiento (Santelices, 1990). Así mismo, se ha reportado la ocurrencia de formación anormal de esporas de diversas algas, que exhiben la formación incompleta de sus flagelos, una orientación incorrecta de la división celular que causa separaciones anormales de los orgánulos; estas evidencias son poco reportadas debido a la dificultad para visualizar las esporas, sin embargo, pueden explicar los valores reducidos en el asentamiento y la germinación de las esporas (Santelices, 1990).

Otro detalle que debe ser considerado, fue el efecto del proceso del lavado de los sustratos de cultivo (valvas) con agua de mar esterilizada a las 48 horas de inoculación; donde se pudo observar desprendimiento de cigotosporas (individuales y en conglomerado), de los tratamientos con mayores densidades de siembra. Esto puede ser explicado debido a que, aunque las uniones de los mucílagos de las esporas liberadas masivamente promueven su mayor hundimiento como lo menciona Hoffmann y Camus (1989), ello no asegura su fijación en el sustrato y la posterior formación del filamento de germinación, puesto que no todas las esporas del conglomerado están en contacto con el sustrato, solo las de la base, lo cual podría generar una adhesión débil susceptible a ser desprendida por el agua de mar con el que se lavó.

Se debe hacer notar que se realizó la evaluación de asentamiento a las 48 horas de inoculación de *Pyropia columbina*, debido a que, pasado este tiempo, la viabilidad de las mismas empieza a disminuir (Hoffmann y Camus, 1989).

4.2. Germinación de las cigotosporas

Los tratamientos T4 y T3 (correspondientes a densidades de siembra altas), obtuvieron los menores valores de germinación de cigotosporas. Por otro lado, el tratamiento T1 y T2 (correspondientes a densidades de siembra baja y media, respectivamente), mostraron los mayores valores de germinación, siendo T2 el que obtuvo el mejor valor. (Tabla 3, Figura 5). Todos los tratamientos difirieron significativamente entre sí ($P < 0.05$).

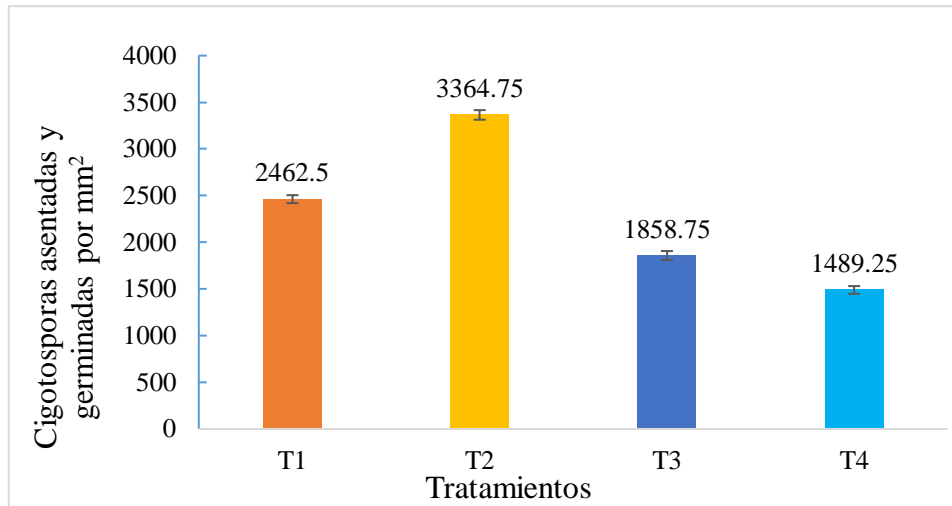


Figura 5. Densidad de cigotosporas germinadas por mm² por cada tratamiento a los 7 días de siembra. Las barras indican la desviación estándar por cada tratamiento.

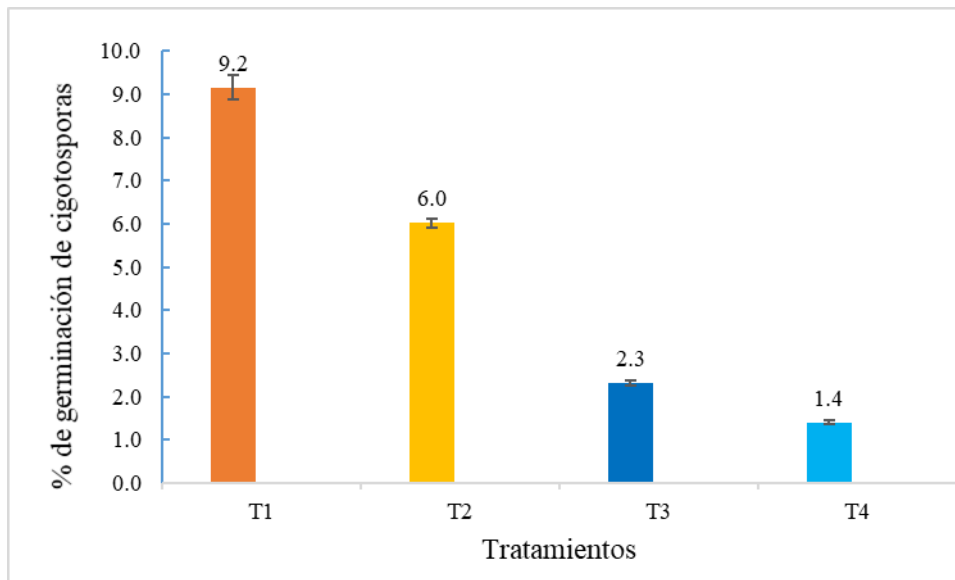


Figura 6. Porcentaje de germinación de cigotosporas de *Pyropia columbina*. Las barras indican la desviación estándar por cada tratamiento.

Tabla 3: Valores de germinación de las cigotosporas de *Pyropia columbina* obtenidos durante la primera semana de evaluación

Tratamientos	Repeticiones	Densidad de siembra (esporas /ml)	Asentamiento o de cigotosporas por mm ²	Cigotosporas germinadas por mm ²			% de germinación de cigotosporas		
				G	D.E	X	%	D.E	X
T1	R1	22900	26320	2517	42.7	2462.5 ^b	9.36	0.3	9.2
	R2		27968	2473			8.80		
	R3		26160	2418			9.41		
	R4		27232	2442			9.04		
T2	R1	458000	56976	3416	51.4	3364.75 ^a	5.91	0.1	6.0
	R2		55440	3301			6.07		
	R3		56288	3395			5.98		
	R4		54800	3347			6.14		
T3	R1	687000	82520	1804	47.6	1858.75 ^c	2.25	0.1	2.3
	R2		78680	1834			2.36		
	R3		78620.8	1895			2.36		
	R4		81633.6	1902			2.28		
T4	R1	916000	105857	1523	41.6	1489.25 ^d	1.41	0.0	1.4
	R2		107999	1508			1.38		
	R3		109280	1429			1.36		
	R4		102752	1497			1.45		

a>b>c>d: así mismo las letras diferentes dentro de una misma fila difieren significativamente ($\alpha=0.05$).

Obtenido de la prueba Tukey (**ANEXO 12**).

D.E= Desviación Estándar, X= Promedio, G= valores individuales de cigotosporas germinadas.

Los resultados obtenidos sobre los bajos porcentajes de germinación (Figura 6), han sido reportados por diversos autores (Ávila, 1999, Romo et al., 2001 y Hebe, 2018). Por su parte, Hebe (2018) y Avila et al. (1999) presentaron porcentajes de germinación de 0% hasta 15,5% para *Gigarthina. skottsbergi*, En adición a ello, Romo et al. (2001) obtuvieron resultados similares respecto a los porcentajes de supervivencia de gametofitos de *Sarcothalia crispata*, con valores de 7% hasta 27%. Ello puede ser explicado debido a que, muchas de las esporas asentadas no desarrollan adecuadamente sus orgánulos, como los cloroplastos, los cuales presentan un aparato fotosintético poco funcional que repercutiría en la muerte del individuo germinado, al no poder realizar la fotosíntesis para sostener su crecimiento y desarrollo (Santelices 1990). En este sentido, es importante mencionar que tanto las esporas maduras como las inmaduras poseen un mucílago que le permitirá asentarse en el sustrato, sin embargo, ello no asegurará que sean viables en el tiempo y/o que sus germinados puedan sobrevivir (Santelices, 1990).

Por otro lado, se pudo observar una relación inversa entre los valores de germinación de cigotosporas y las densidades de siembra, obteniendo los mayores valores de germinación los tratamientos de menores densidades de siembra (T1 y T2). Esta situación ha sido

reportada en diversos estudios realizados en condiciones de laboratorio (Black, 1974; Schiel et al., 1980; Scrosati & Steen, 2004 y Conitz et al., 2013). En este sentido, Black (1974) nos demostró dicha dependencia para rodales de *Egregia laevigata* en los estados iniciales de su desarrollo (individuos de 5mm) como resultado de las competencias intraespecíficas. Por su parte, Schiel et al. (1980) determinó que hubo una mayor mortalidad de los esporofitos de *Ecklonia radiata* a una mayor densidad de siembra. En adición a lo mencionado, Scrosati y Steen (2004) realizaron un estudio con *Fucus evanescens* y *Fucus serratus*, a diferentes densidades de asentamiento (10, 50 y 250 germinados por cm²) determinando la misma relación, antes mencionada.

En consecuencia, la relación negativa entre la densidad de siembra y la germinación de las cigotosporas se debe a que, aunque en los estados iniciales de desarrollo el asentamiento y la germinación se ve favorecida por las altas densidades poblacionales, la situación cambia cuando los individuos comienzan a madurar y a formar colonias, pues dicho hacinamiento genera competencias intraespecíficas por la ocupación del espacio en el sustrato y por la captación de luz, lo cual puede producir la mortandad de los individuos (Scrosati, 2005; Conitz et al., 2013).

En adición a lo anteriormente mencionado, cuando se pudo observar el inicio del proceso de germinación (después de las 48 horas), las cigotosporas comenzaron a desarrollar las estructuras filamentosas que forman las colonias de la fase conhocelis, las cuales crecieron extendiéndose paralelamente a las valvas iniciando una fuerte competencia por el sustrato. De esta manera, muchos los filamentos con mayor desarrollo taparon a otros grupos cercanos con un menor desarrollo (más pequeños), impidiendo que puedan acceder a la luz. Este fenómeno de competencia ha sido reportado por diversos autores (Black, 1974; Schiel et al., 1980; Scrosati & Steen, 2004 y Conitz et al., 2013).

Se debe hacer notar que, en todos los tratamientos evaluados, los parámetros físico-químicos de cultivo fueron los mismos, lo cual aseguró la visualización de los efectos del factor biológico evaluado, la densidad de siembra, sin la interacción de factores bióticos como herbívoros y otros microorganismos que podrían afectar el cultivo.

4.3. Crecimiento de las colonias de la fase conhocelis

Se pudo observar un crecimiento constante en todos los tratamientos a lo largo de toda la evaluación, sin embargo, se evidenció un crecimiento significativamente mayor ($P < 0.05$) de

las colonias de la fase conchocelis en el tratamiento T2; empezando con un área de crecimiento para la semana 2 de 88,59 μm^2 hasta 10797,81 μm^2 para la semana 8 (Tabla 4). Por otra parte, el tratamiento T4 fue el que obtuvo una menor área crecimiento, el cual inició con un área promedio de 24.15 μm^2 , llegando hasta un valor de 3217.07 μm^2 para el día 56 (Figura 4).

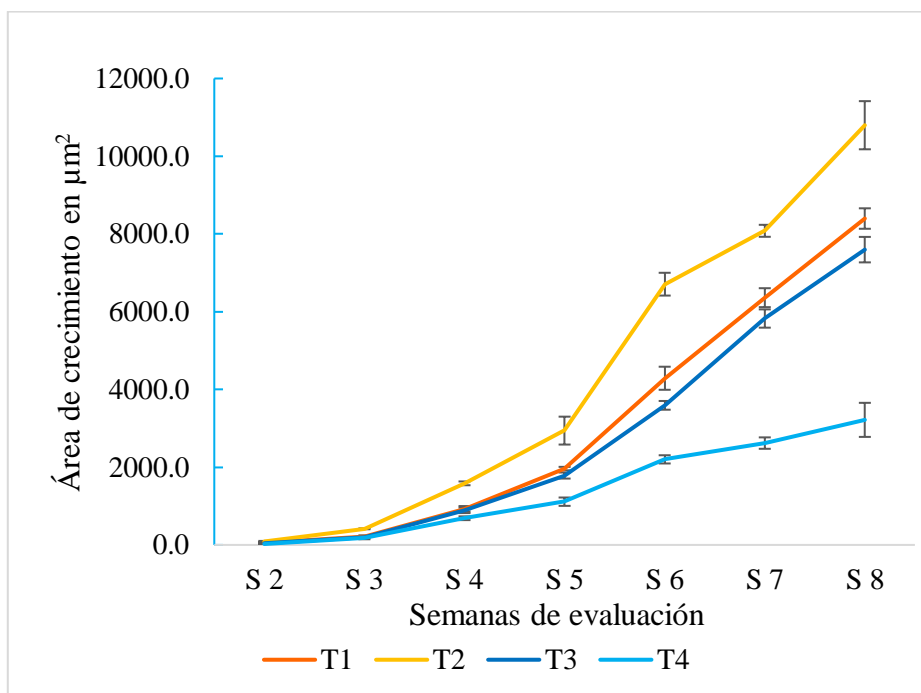


Figura 7. Área de crecimiento de las colonias de la fase conchocelis de *Pyropia columbina* desde la semana 2 hasta la semana 8 de evaluación. Las barras indican la desviación estándar por cada tratamiento.

Tabla 4: Crecimiento de la fase de conchocelis de *Pyropia columbina* desde la semana 2 hasta la semana 8 (μm^2)

Tratamientos	Semanas de evaluación						
	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
T1	54.22 ^b	200.14 ^b	929.37 ^b	1976.33 ^b	4288.21 ^b	6361.00 ^b	8397.18 ^b
T2	88.59 ^a	414.25 ^a	1584.13 ^a	3041.00 ^a	6708.45 ^a	8081.25 ^a	10797.81 ^a
T3	42.35 ^{b,c}	199.63 ^b	888.64 ^b	1785.47 ^b	3590.74 ^c	5824.62 ^c	7596.61 ^b
T4	24.15 ^c	191.36 ^b	686.26 ^c	1112.34 ^c	2201.00 ^d	2619.69 ^d	3217.07 ^c

a>b>c>d, así mismo las letras diferentes, para una misma fecha de evaluación, difieren significativamente ($\alpha=0.05$). Obtenido de la prueba Tukey (Ver ANEXO 13).

Tabla 5: Área de influencia de las colonias (cm²) de la fase conchocelis

Semanas de evaluación	T1	T2	T3	T4
S6	1.05 ^b	2.38 ^a	0.66 ^c	0.08 ^d
S7	1.29 ^b	2.83 ^a	0.75 ^c	0.11 ^d
S8	1.52 ^b	3.29 ^a	0.86 ^c	0.15 ^d

a>b>c>d, así mismo las letras diferentes, para una misma fila, difieren significativamente ($\alpha=0.05$). Obtenido de la prueba LSD-FISHER (ANEXO 14). Donde T1, T2, T3 y T4 son: 50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml de inóculo inicial respectivamente).

El crecimiento de las colonias de la fase conchocelis de *Py. columbina* estuvo relacionado positivamente con la germinación, pues siguió la misma tendencia de los porcentajes de germinación de las cigotosporas, respecto a las densidades de asentamiento (Figura 5 y 6). Así mismo, los valores obtenidos sobre el área de influencia de las colonias de la fase conchocelis a partir de la semana 6 en adelante, corroboran la tendencia del crecimiento expuesto anteriormente, donde T2 exhibió la mayor área de influencia con un área de 3.29 cm² de crecimiento de las colonias de la fase conchocelis de *Py. columbina*. (Tabla 5). Esta situación puede indicar que el crecimiento observado, expresado en el área cubierta por las colonias de la fase conchocelis, es una consecuencia de la sobrevivencia de los germinados, puesto que al parecer la densidad de siembra T2, a pesar de haber mostrado una alta tasa de mortandad en el asentamiento y la germinación, permitió el crecimiento y el desarrollo de los individuos sobrevivientes de las colonias de la fase conchocelis.

Siguiendo con lo anteriormente mencionado, la relación negativa observada entre el crecimiento, expresado en área cubierta por las colonias de la fase conchocelis y la densidad de siembra; concuerdan con estudios realizados por diferentes autores, que indican que existe una relación inversa entre el crecimiento de un grupo monoespecífico de individuos y las altas densidades de siembra de esporas. (Reed et al., 1990; Karez, 2003 y Conitz et al., 2013). Con base en ello, un estudio realizado por Conitz *et al.* (2013), quienes utilizaron 3 densidades de siembra de conchosporas de *Py. torta*, obtuvieron un mayor crecimiento de los individuos (talos) en densidades de siembra bajas, los cuales eran 10 veces más grandes que los talos de los individuos de densidades medias y altas. Por su parte, Reed et al. (1990) obtuvo resultados similares de crecimiento dependiente de la densidad de asentamiento con *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Ag. y *Pterygophora californica* Ruprecht y observó mayor crecimiento de los esporofitos (parte macroscópica) en densidades medias (menores a 50-3000 esporas/mm²).

Ello puede ser explicado debido a los efectos que causa el hacinamiento en las poblaciones monoespecíficas de algas, pues a medida que los individuos se desarrollan, empieza a generarse relaciones intraespecíficas de competencia por la ocupación del espacio en el sustrato y por la luz (Conitz et.al ,2013; Scrosati, 2005). En este sentido, el hacinamiento genera una disminución de la densidad del grupo a consecuencia de la mortandad, sin embargo, es necesario indicar que la mortandad se da tanto en grupos de densidad de siembra baja como alta; así mismo, el periodo de mortandad suele durar más tiempo en los grupos con mayor hacinamiento, de tal manera que a densidades bajas, la mortandad se detiene en las primeras semanas del desarrollo de los individuo y permite el crecimiento de los individuos sobrevivientes (Schiel et al., 1980; Karez, 2003; Conitz et al., 2013). Con base en ello se puede indicar que posterior a la elevada tasa de mortandad observada en los germinados de *Pyropia columbina*, es probable que dicha disminución de los individuos haya continuado hasta que la población sobreviviente pueda desarrollarse y crecer sin que se genere una competencia intraespecíficas entre las colonias por los recursos.

Finalmente, se puede indicar que los resultados obtenidos reflejan la capacidad de *Py columbina* de adaptarse a condiciones de cultivo, lo cual representa el primer paso para viabilizar el proceso inicial de asentamiento de cigotosporas; ello permitirá mantener un stock de la fase conchocelis que aseguraría la producción de este recurso durante todo el año. Esto es de gran relevancia, debido a que reduciría la presión extractiva y diversificaría la actividad productiva de los algueros artesanales, al poder obtener ingreso por el cultivo y venta de este recurso.

V. CONCLUSIONES

- Se obtuvo un bajo porcentaje de asentamiento de cigotosporas de *Pyropia columbina* en todos los tratamientos, sin embargo, el tratamiento que generó un mayor asentamiento fue T2 con 55876 ± 953.5 esporas por mm^2 .
- Existe una relación inversa (negativa) entre la densidad de siembra y la germinación de cigotosporas de *Pyropia columbina*, siendo los tratamientos T1 y T2, los que demostraron los mayores valores de germinación con 2462.5 ± 42.7 y 3364.75 ± 51.4 cigotosporas asentadas por mm^2 . Sin embargo el tratamiento T1 obtuvo un porcentaje de germinación mayor de 9.2 ± 0.3 .
- Existe una relación inversa (negativa) entre la densidad de siembra de cigotosporas y el crecimiento de las colonias de la fase conchocelis de *Pyropia columbina*, siendo el tratamiento T2 el que generó un mayor crecimiento de las colonias de la fase conchocelis con un área de cobertura de 3.29 cm^2 para la última semana de evaluación.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar la cantidad adecuada de GeO_2 , para combatir las diatomeas sin afectar el cultivo, pues existen diferencias entre las dosis recomendadas por la bibliografía.
- Se debería optimizar el uso de Bayfolan como fuente de nutrientes, probar dosis y concentraciones que permitan un crecimiento del cultivo mayor y más rápido, a nivel de laboratorio.
- Se podría utilizar mayores densidades de siembra de cigosporas, con sustratos de dimensiones más grandes, homogéneos y de superficies planas, para poder observar mejor los efectos generados por la densidad de siembra.
- Sería interesante que se pudiera continuar la fase esporofítica, para conocer el efecto total que podría tener la densidad inicial de siembra de cigosporas de *Pyropia columbina* en la descarga final de conchosporas, que finalmente generará los talos macroscópicos comercializables.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Acleto, C., & Endo, J. (1977). Las especies peruanas de *Porphyra* (Rhodophyta, Bangiales), I. Taxonomía y distribución geográfica. Lima, Perú, Museo de Historia Natural “Javier Prado” UNMSM. 8 p (Serie B Botánica N° 29).
- Acleto, C. (1986). Algas marinas del Perú de importancia económica. Museo de Historia Natural “Javier Prado” UNMSM. 107 p (Serie de divulgación N° 5).
- Acleto, C., & Zuñiga, R. (1998). Introducción a las algas. Lima: Editorial Escuela Nueva S.A.
- Acuña, E., & Espinoza, M. (2014). Cultivo experimental de *Pyropia* sp. Seminario de investigación. Chile. Universidad Católica de la Santísima Concepción.
- Agrawal, S.C. (2009). Factors Affecting Spore Germination in Algae. *Folia Microbiol.* 54 (4): 273–302.
- Arbaiza, S. J. (2016). Viabilidad reproductiva para el cultivo de *Chondracanthus chamissoi* proveniente de tres poblaciones del Litoral Peruano. (Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en Acuicultura). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima.
- Ávila, M., Candia, A., Núñez, M., & Romo, H. (1999). Reproductive biology of *Gigartina skottsbergii* (Gigartinaceae, Rhodophyta) from Chile *Hydrobiologia* 398/399:149–157
- Ávila, M., Santelices, B., & McLachlan, J. (1985). Photoperiod and temperature regulation of the life history of *Porphyra columbina* (Rhodophyta, Bangiales) from central Chile. *Canadian Journal of Botany*, 64(9):1867-1872.
- Benkaddour, S. (2006). Asimilación y Biofiltración de fosfatos para el desarrollo de sistemas integrados en acuicultura. Efecto de las variaciones en la relación N/P. Master Universitario Internacional de Acuicultura. Las Palmas, España, ULPGC.2006.111p.

- Black, R. (1974). Some biological interactions affecting intertidal populations of the kelp *Egregia laevigata*. *Mar. Biol*, 28: 189–198.
- Blouin, N., Brodie, J., Grossman, A., Xu, P., & Brawley, S. (2011). *Porphyra*: A marine crop shaped by stress. *Trends in Plant Science* 16(1):29-37.
- Callow, M., Callow, J., Pickett-Heaps, J., & Wetherbee, R. (1997). Adhesión primaria de propágulas *Enteromorpha* (Clorofita, ulvales): estudios de asentamiento cuantitativo y video microscopía 1. *Journal of Phycology*, 33 (6): 938–947. doi: 10.1111 / j.0022-3646.1997. 00938.x
- Chen, L., Edelstein, T., Ogata, E., & McLachlan, J. (1970). The life history of *Porphyra miniata*. *Canadian Journal of Botany*, 48(2):385-389.
- Chen, J., & Xu, P. (2005). Culture aquatic species information programme – *Porphyra spp.* En: Departamento de pesca y acuicultura de la FAO (en línea). Roma. Consultado 20 jul. 2017. Recuperado de http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Porphyra_spp/es.
- Chopin, T., Buschmann, A.H., Halling, C., Troell, M., Kautsky, N., Neori, A., Kraemer, G.P., Zertuche-González, J.A., Yarish, C., & Neefus, C. (2001). Integrating seaweeds into marine aquaculture systems: a key toward sustainability. *J Phycol*, 37:975–986.
- Chung, I.K., Kang, Y.H., Yarish, C., Kraemer, G.P., & Lee, J.A. (2002). Application of seaweed cultivation to the bioremediation of nutrient-rich effluent. *Algae*, 17:187–194.
- Clokie, J., & Boney, A. (1980). *Conchocelis* distribution in the firth of clyde: estimates of the lower limits of the photic zone. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 46:111-125.
- Conitz, J.M., Fagen, R., & Stekoll; M.S. (2013). Effects of density and substrate type on recruitment and growth of *Pyropia torta* (Rhodophyta) gametophytes. *Botánica Marina*, 56(5-6):525-533.
- Dlaza, T.S. (2011). Development in culture, ecophysiology and nutritional content of three South African *Porphyra* (Rhodophyta, Bangiales) species (Ph.D. Thesis). Ciudad del Cabo, Sudáfrica. University of Cape Town.

- Dreckmann, K.M., Sentías, A., & Nuñez, M.L. (2013). Manual de prácticas de laboratorio de Biología. Biología de algas. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA. México. UNIDAD IZTAPALAPA.
- Drew, K.M. (1949). *Conchocelis*-Phase in the Life-History of *Porphyra umbilicalis* (L.) Kütz. Nature, 164(4174):748-749.
- Drew, K.M. (1954). Studies in the Bangioideae III. The life-history of *Porphyra umbilicalis* (L.) Kütz. var. *laciniata*. The conchocelis-phase in culture. Annals of Botany, 18(2):183-216.
- Etcheverry, H., & Collantes, G. (1977). Cultivo artificial de luche *Porphyra columbina* (Montagne 1845) (Rhodophyta, Bangiaceae). Revista de Biología Marina, 16(2): 195-202.
- FAO. (2016). The state of world fisheries and aquaculture: contributing to food security and nutrition for all. Roma: FAO.78.
- Fletcher, R.L., & Callow, M.E. (1992). The settlement, attachment and establishment of marine algal spores. British Phycological Journal, 27(3):303-329.
- Franco, J., Acleto, C., Chambilla, V., & Sulca, L. (1995). Estudio de las algas Rhodophyta del litoral de Tacna (Boca del Rio, Vila-Vila y Canepa). Ciencia y Desarrollo, 1:5-11.
- Frazer, A.W., & Brown, M.T. (1995). Growth of the conchocelis phase of *Porphyra columbina* (Bangiales, Rhodophyta) at different temperatures and levels of light, nitrogen and phosphorus. Phycological Research, 43:249-253
- Gallardo, T. (2014). Marine algae: general aspects (biology, systematics, field and laboratory techniques). En L.Pereira, J.M. Neto (Eds.), Marine Algae: biodiversity, taxonomy, environmental assessment, and biotechnology (p. 1-67). USA: CRC Press.
- Granhag, L.M., Larsson, A.I., & Jonsson, P.R. (2007). Algal spore settlement and germling removal as a function of flow speed. Marine Ecology Progress Series, 344:63-69.
- Guiry, M.D., & Guiry, G.M. (2020). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 07 August 2020.

- Hayashi, L., Bulboa, C., Kradolfer, P., Soriano, G., & Robledo, D. (2013). Cultivation of red seaweeds: a Latin American perspective. *Journal of Applied Phycology*, 26(2):719-727.
- Hebe, M. (2018). Reproducción a partir de esporas de *Gigartina skottsbergii* y *Sarcothalia crispata* (Rhodophyta) de la Patagonia argentina y aplicación farmacéutica de sus carragenanos. (Tesis para optar el grado de Magister). Universidad Nacional del Sur. Argentina
- Hoffmann, A.J., & Camus, P. (1989). Sinking rates and viability of spores from benthic algae in central Chile. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 126(3):281-291. DOI:10.1016/0022-0981(89)90193-7
- IMARPE. (2016). Guía ilustrada para reconocimiento de especies de moluscos bivalvos con valor comercial. Serie de divulgación científica, 2(1):1-88.
- Joly, A.B., & Yamaguishi, N.T. (1963). The life-history of *Porphyra atropurpurea*. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo. Botânica*, 19:117-131.
- Joshi, H.V., Oza, R.M., & Tewari, A. (1992). Life cycle and growth of *Porphyra okhaensis* sp. nov. in culture. *Indian Journal of Marine Sciences*, 21:262-267.
- Karez, R. (2003) Do monospecific stands of three *Fucus* species (Phaeophyta) comply with the 'self-thinning rule'?, *European Journal of Phycology* (38) :2, 171-180, DOI: 10.1080/0967026031000085841
- Kavishe, D. (2015). A taxonomic, ecological and nutritional study of *Porphyra capensis* Kützing populations from the Namibian Coast (Ph.D. Thesis). Windhoek, Namibia. University of Namibia.
- Krishnamurthy, V. (1969). The conchocelis phase of three species of *Porphyra* in culture. *Journal of Phycology*, 5(1):42-47.
- Levine, I.A., & Sahoo, D. (2010). *Porphyra* - harvesting gold from the sea. I.K. International Publishing House Pvt. Ltd., New Delhi
- Lin, R., Lindstrom, S.C., & Stekoll, M.S. (2008). Photosynthesis and respiration of the conchocelis stage of Alaskan *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) species in response to environmental variables. *Journal of Phycology*, 44(3):573-583.

- Lobban, C.S., & Harrison, P.J. (1997). Seaweed ecology and physiology. Nueva York, USA: Cambridge University Press
- López, J., Riosmena, R., Jiménez, A., Pacheco, I., & Yarish, C. (2014). Growth and reproductive responses of the conchocelis phase of *Pyropia hollenbergii* (Bangiales, Rhodophyta) to light and temperature. *Journal of Applied Phycology*, 27(4):1561-1570.
- Lu, S., & Yarish, C. (2011). Interaction of photoperiod and temperature in the development of conchocelis of *Porphyra purpurea* (Rhodophyta: Bangiales). *Journal of Applied Phycology*, 23:89-96.
- Maggs, C.A., & Callow, M.E. (2002). Algal Spores. Nature Publishing Group. Encyclopedia of Life Sciences.
- Marquez, D. (2019). Delimitación de especies de los géneros *Pyropia/Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) de la costa peruana en base a marcadores moleculares. (Tesis para optar el grado de Biólogo). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima.
- McHugh, D.J. (2003). A guide to the seaweed industry. FAO Fisheries Technical Paper 441. Roma. Italia: FAO.
- Melanie, H.H. (2018). Reproducción a partir de esporas de *Gigartina skottsbergii* y *Sarcothalia crispata* (Rhodophyta) de la Patagonia Argentina y aplicación farmacéutica de sus carragenanos. (Tesis para obtener el grado de Doctora en Biología). Argentina. Bahía Blanca.
- Melvin, D.J., Mumford, T.F., Byee, W.J., Inayoshi, M., & Bryant, V.M. (1986). Conchocelis Culture: Equipment and Techniques for Nori Farming in Washington State. USA: University of Washington Press, 67pp.
- Merrill, J.E., & Gillingham, D.M. (1991). Bull kelp cultivation handbook. National Coastal Resources Research and Development Institute, Portland, 69 pp.
- Morón, O. (2000). Características del ambiente marino frente a la costa peruana. *Boletín Imarpe*, 19(1-2):179-204.
- Mouritsen, O.G. (2013). Seaweeds: edible, available and sustainable. USA: University of Chicago Press, 283 pp.

- Nam-Gil, K. (1999). Culture studies of *Porphyra dentata* and *P. pseudolinearis* (Bangiales, Rhodophyta), two dioecious species from Korea. *Hydrobiologia*, 398(0):127-135.
- Neto, J.M., Juanes, J.A., Pedersen, A., & Scanlan, C. (2014). Marine Macroalgae and the Assessment of Ecological Conditions. En L. Pereira y J, Neto (Eds.), *Marine Algae: biodiversity, taxonomy, environmental assessment, and biotechnology* (p. 97-139). USA: CRC Press.
- Pacheco, R.I., Zertuche, J.A., Arroyo, O.E., & Valenzuela, E.E. (2004). Agricultural fertilizers as alternative culture media for biomass production of *Chondracanthus squarulosus* (Rhodophyta, Gigartinales) under semi-controlled conditions. *Aquaculture*, 204:201-209.
- Pariona, E., & Gil-Kodaka, P. (2011). Colonización de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) sobre sustratos calcáreos en Playa Mendieta, Reserva Nacional de Paracas. *Anales Científicos*, 72(1):19-26.
- PRODUCE. (2009). Decreto Supremo N° 019-2009-PRODUCE: Reglamento de ordenamiento pesquero de las macroalgas marinas (en línea). Perú. Consultado 15 ago. 2017. Recuperado de http://www.proacuicultura.com.pe/legislaciones/DECRETO_SUPREMO/decreto-supremo-n-019-2009-produce.pdf
- Quitral, R.V., Morales, G.C., Sepúlveda, L. M, & Schwartz, M.M. (2012). Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. *Revista chilena de nutrición*, 39(4), 196-202. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182012000400014>
- Ramírez, M.E., & Santelices, B. (1991). Catálogo de las algas marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico de Sudamérica. *Monografías Biológicas*, 5:1-437.
- Redmond, S., Green, L., Yarish, C., Kim, J., & Neefus, C. (2014). *New England Seaweed Culture Handbook: nursery systems*. EE.UU: Sea Grant Connecticut.
- Reed, D.C. (1990) An experimental evaluation of density dependence in a subtidal algal population. *Ecology* 71:2286–2296.
- Reed, D.C., Neushul, M., & Ebeling, A.W. (1990). Role of settlement density on gametophyte growth and reproduction in the kelps *Pterygophora californica* and *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae). *Journal of Phycology*, 27(3):361 – 366.

- Romo, H., & Paula, E. (1995). Métodos experimentales para el cultivo de *Porphyra*. En K. Alveal, M.E. Ferrario, E.C. Oliveira, E. Sar (Eds.), Manual de métodos ficológicos (p. 551-562). Chile: Universidad de Concepción.
- Romo, H., Alveal, K., & Werlinger, C. (2001). Growth of the commercial carrageenophyte *Sarcotalia crispata* (Rhodophyta, Gigartinales) on suspended culture in Central Chile. *J Appl Phycol*, 13:229-234
- Romo, H., Ávila, M., Candía, A., Nuñez, M., Oyarzo, C., Galleguillos, F., & Cáceres, J. (2005). Manual de técnicas de cultivo de “Luche” (*Porphyra sp.*). Proyecto FONDEF DO1 I 1148. Chile: Instituto de Fomento Pesquero.
- Sahoo, D., Tang, X., & Yarish, C. (2002). *Porphyra* – the economic seaweed as a new experimental system. *Current Science*, 83(11):1313-1316.
- Sahoo, D., & Yarish, C. (2005). Mariculture of seaweeds. En R.A. Andersen (Eds.), *Algal Culturing Techniques* (p. 219-237). USA: Elsevier Academic Press.
- Santelices, B. (1990). Patterns of reproduction, dispersal and recruitment in seaweeds. *Oceanography Marine Biology Annual Review*, Vol. 28, Pág. 177-276
- Sarmiento, F., Alvarez-Yanamango, E., Huayta, F., & Cáceres, J. (julio, 2019). Harina de *Porphyra* spp. una alternativa para el suministro proteico de bajo costo para la dieta humana. En Aple, N. (Presidenta), 17th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology: “Industry, Innovation, And Infrastructure for Sustainable Cities and Communities”, Jamaica.
- Schiel, D.R., & Choat, J.H. (1980). Efectos de la densidad en rodales monoespecíficos de algas marinas. *Nature*, 285 (5763), 324–326. doi: 10.1038 / 285324a0
- Scrosati & Steen, H. (2004). La competencia intraespecífica en *Fucus serrato* y *F. Evanesceus* (Phaeophyceae: Fucales) germinaciones: efectos de la densidad de asentamiento, concentración de nutrientes y temperatura. *Marine Biology*, 144:61–70.
- Sidirelli-Wolff, M. (1992). The influence of temperatura, irradiance and photoperiod on the reproductive life history of *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta) in laboratory culture. *Botanica Marina*, 35:251-257.
- Thomas, D.N. (2002). *Seaweeds*. The Natural History Museum London. Londres.

- Vasquez, J., & Vega, J. (2001). *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile: ecological aspects for management of wild populations. *J. appl. Phycol*, 13: 267 – 277.
- Waaland, J.R., Dickson, L.G., & Carrier, J.E. (1987). Conchocelis growth and photoperiodic control of conchospore release in *Porphyra torta* (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, 23:399-406.
- Yang, L.E., Lu, Q.Q., & Brodie, J. (2017). A review of the bladed Bangiales (Rhodophyta) in China: history, culture and taxonomy. *European Journal of Phycology*, 52(3):251-263.
- Zuta, S., & Guillen, O. (1970). Oceanografía de las aguas costeras del Perú. *Boletín Imarpe*, 2(5):157-324.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Valores promedio de las esporas asentadas por mm²

Tratamientos	Repeticiones	Asentamiento	Promedio
T1	R1	26320	26920
	R2	27968	
	R3	26160	
	R4	27232	
T2	R1	56976	55876
	R2	55440	
	R3	56288	
	R4	54800	
T3	R1	82520	80363.6
	R2	78680	
	R3	78620.8	
	R4	81633.6	
T4	R1	105857	106472
	R2	107999	
	R3	109280	
	R4	102752	

Anexo 2: Valores promedio de la germinación de cigotosporas por mm²

Tratamientos	Repeticiones	Germinación	Promedio
T1	R1	2517	2462.5
	R2	2473	
	R3	2418	
	R4	2442	
T2	R1	3416	3364.75
	R2	3301	
	R3	3395	
	R4	3347	
T3	R1	1804	1858.75
	R2	1834	
	R3	1895	
	R4	1902	
T4	R1	1523	1489.25
	R2	1508	
	R3	1429	
	R4	1497	

Anexo 3: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 2

Tratamientos		Área promedio (um ²)	
T1	R1	65.53	54.23
	R2	45.92	
	R3	43.81	
	R4	61.64	
T2	R1	84.23	88.59
	R2	92.64	
	R3	105.85	
	R4	71.62	
T3	R1	46.79	42.35
	R2	34.25	
	R3	45.25	
	R4	43.09	
T4	R1	22.86	24.15
	R2	21.00	
	R3	25.89	
	R4	26.86	

Anexo 4: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 3.

Tratamientos		Área promedio (um ²)	
T1	R1	192.99	207.64
	R2	258.37	
	R3	211.06	
	R4	168.13	
T2	R1	408.35	414.25
	R2	424.93	
	R3	422.56	
	R4	401.16	
T3	R1	195.67	197.13
	R2	203.43	
	R3	200.66	
	R4	188.75	
T4	R1	212.07	176.36
	R2	136.37	
	R3	174.56	
	R4	182.42	

Anexo 5: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 4.

Tratamientos		Área promedio (um ²)	
T1	R1	959.38	929.37
	R2	844.38	
	R3	907.35	
	R4	1006.37	
T2	R1	1570.99	1584.13
	R2	1618.59	
	R3	1520.71	
	R4	1626.22	
T3	R1	929.17	888.64
	R2	920.64	
	R3	919.77	
	R4	784.96	
T4	R1	639.20	686.26
	R2	739.20	
	R3	652.99	
	R4	713.65	

Anexo 6: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 5.

Tratamientos		Área promedio (um ²)	
T1	R1	1911.86	1963.83
	R2	2008.98	
	R3	1942.49	
	R4	1991.98	
T2	R1	3156.95	2941.00
	R2	2406.68	
	R3	3143.94	
	R4	3056.45	
T3	R1	1792.79	1785.47
	R2	1853.01	
	R3	1674.11	
	R4	1821.96	
T4	R1	1053.51	1112.34
	R2	1080.39	
	R3	1043.67	
	R4	1271.81	

Anexo 7: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 6.

Tratamientos		Área promedio (um ²)	
T1	R1	4699.66	4288.21
	R2	4002.34	
	R3	4172.79	
	R4	4278.04	
T2	R1	6490.33	6708.46
	R2	7004.56	
	R3	6424.85	
	R4	6914.09	
T3	R1	3694.42	3590.74
	R2	3435.34	
	R3	3586.79	
	R4	3646.41	
T4	R1	2132.17	2201.00
	R2	2208.00	
	R3	2116.12	
	R4	2347.72	

Anexo 8: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 7.

Tratamientos		Área promedio (um ²)	
T1	R1	6656.99	6360.99
	R2	6234.08	
	R3	6450.36	
	R4	6102.57	
T2	R1	8100.12	8081.25
	R2	8061.02	
	R3	8269.80	
	R4	7894.08	
T3	R1	5926.46	5824.62
	R2	6066.34	
	R3	5790.93	
	R4	5514.75	
T4	R1	2552.73	2619.69
	R2	2654.49	
	R3	2464.40	
	R4	2807.15	

Anexo 9: Valores promedio de las áreas de las colonias de conchocelis para la semana 8.

Tratamientos		Área promedio (um ²)	
T1	R1	8640.76	8397.18
	R2	8033.11	
	R3	8390.91	
	R4	8523.93	
T2	R1	10041.47	10797.81
	R2	10654.85	
	R3	10970.17	
	R4	11524.74	
T3	R1	7839.57	7596.61
	R2	7595.17	
	R3	7133.68	
	R4	7818.01	
T4	R1	3151.45	3217.07
	R2	2729.99	
	R3	3191.62	
	R4	3795.20	

Anexo 10: Valores promedio de las áreas de influencia de las colonias de conchocelis, desde la semana 6 hasta la semana 8.

Área de influencia de colonias de conchocelis en el sustrato

Tiempos de evaluación (días)	Tratamientos	Área de cobertura en el sustrato (cm ²)	Porcentaje de cobertura (%)
42	T1	1.05	26.23
	T2	2.38	59.55
	T3	0.66	16.39
	T4	0.08	2.11
49	T1	1.29	32.33
	T2	2.83	70.64
	T3	0.75	18.71
	T4	0.11	2.76
56	T1	1.52	38.11
	T2	3.29	82.17
	T3	0.86	21.59
	T4	0.15	3.64

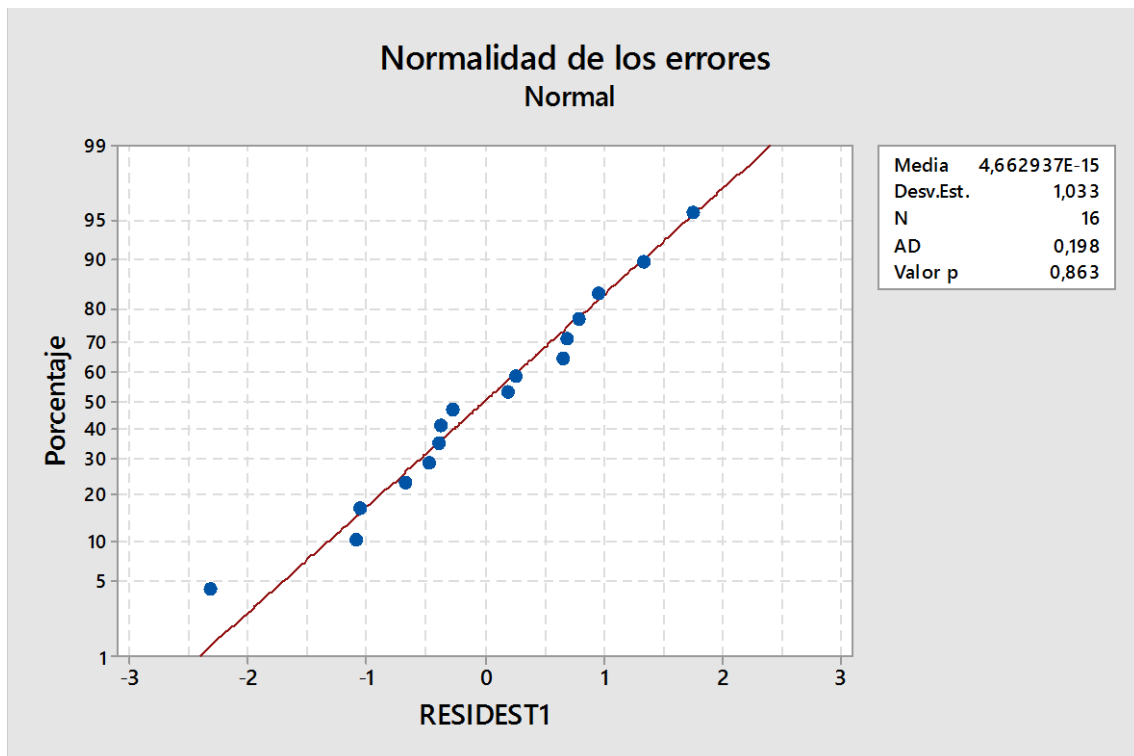
Anexo 11: Análisis estadísticos del asentamiento de las cigotosporas

Prueba de normalidad (Anderson Darling) para la variable “densidad de siembra”.

HIPOTESIS:

H₀: Los residuos se distribuyen normalmente

H₁: Los residuos no se distribuyen normalmente



FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	AD = 0,198
P-valor:	0.863 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H ₀

Conclusión:

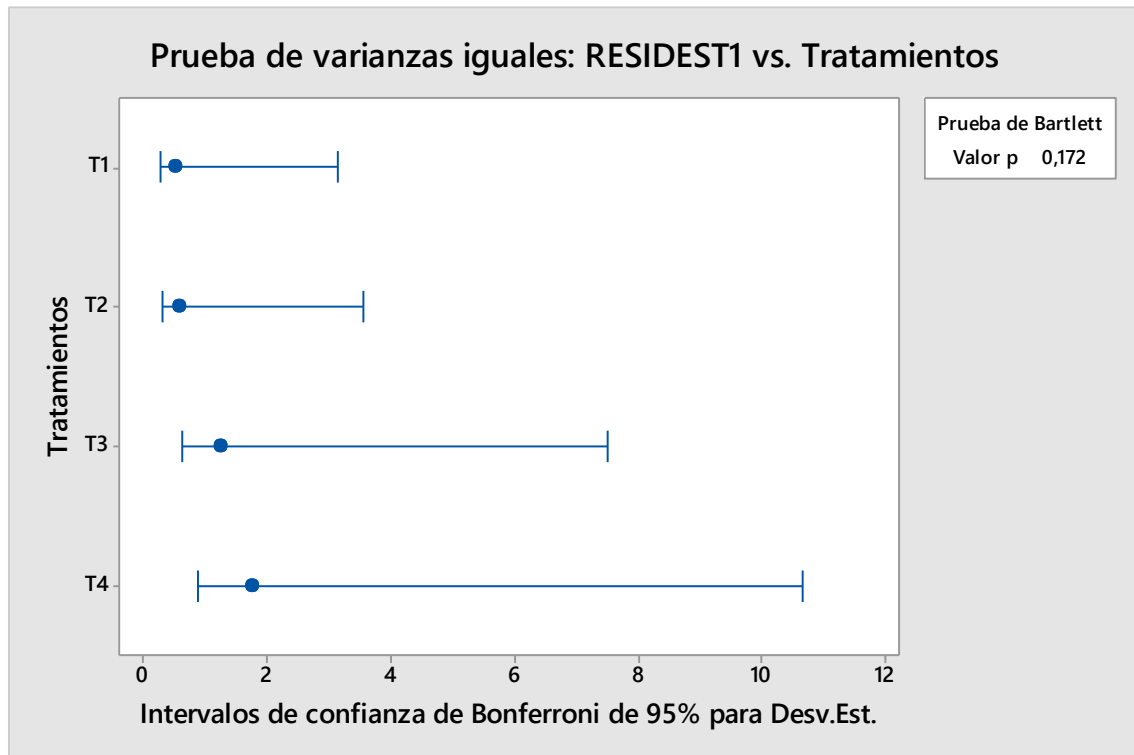
A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que los residuos se distribuyen normalmente.

Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett

HIPOTESIS:

$$H_0: \delta^2_1 = \delta^2_2 = \delta^2_3 = \delta^2_4$$

H1: Al menos una varianza es diferente



FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

CUADRO1

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Bartlett = 4,60
P-valor:	0,172 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H_0

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H_0 , por lo tanto, podemos afirmar que las varianzas son homogéneas.

Como ambos supuestos cumplen, podemos proceder a realizar un DCA:

DCA:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (No hay diferencia significativa entre los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra)

H₁ = al menos un μ_i es diferente. (Al menos una de las densidades de siembra tiene un efecto sobre el asentamiento de las cigotosporas)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATRAMIENTOS	3	13864435341	4621478447	1338,62	0,000
Error	12	41428904	3452409		
Total	15	13905864245			

FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Fisher = 1338,62
P-valor:	0,00 < 0.05
Decisión:	SE rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, se rechazó H₀, por lo tanto, podemos decir que al menos uno de los 4 tratamientos (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial) generó un efecto sobre el asentamiento de las cigotosporas.

Ahora realizamos una prueba TUKEY para saber cuál de las 4 densidades de siembra (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial) genera un mayor asentamiento de las cigotosporas de *Py. columbina*.

PRUEBA TUKEY

HIPÓTESIS:

Ho: $\mu_i = \mu_j$

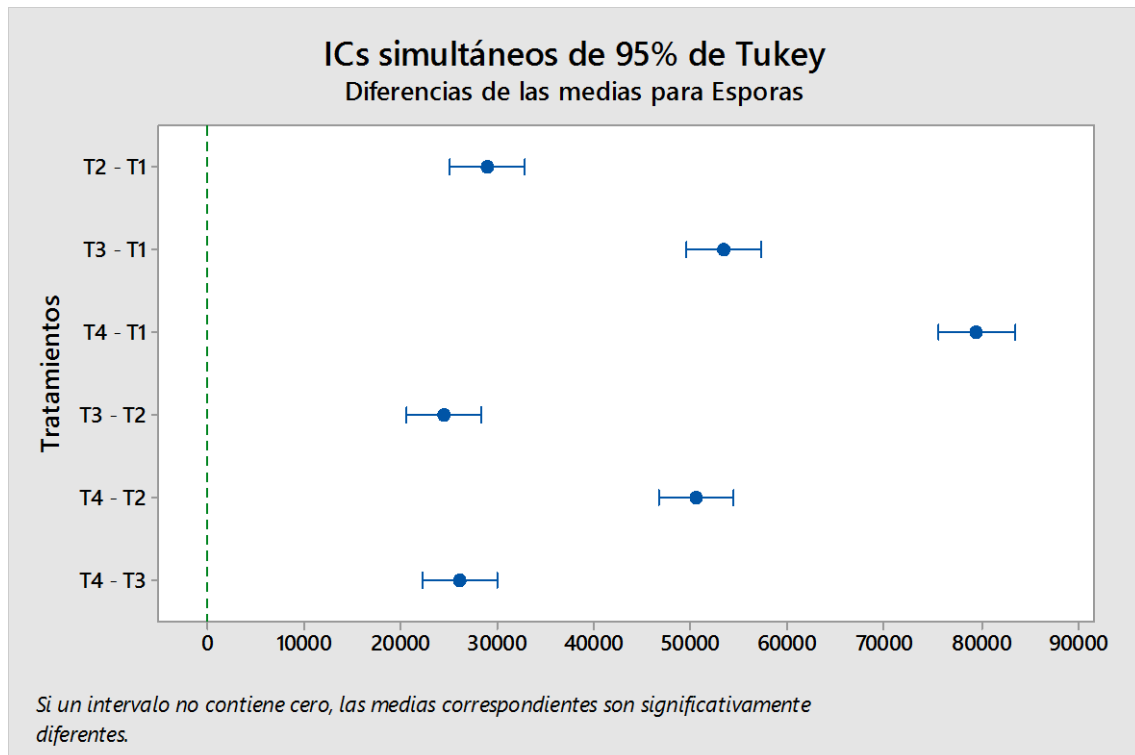
H1: $\mu_i \neq \mu_j$

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
-------------------------	-----------------

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamientos	N	Media	Agrupación
T4	4	106472	A
T3	4	80364	B
T2	4	55876	C
T1	4	26920	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



CONCLUSIÓN:

A un nivel de significación de 0.05, se obtuvo un mayor asentamiento de las cigotosporas del alga *Py. Columbina* por mm^2 , con el Tratamiento T4 (200 ml del inoculo inicial), el cual difirió significativamente de los demás tratamientos T1, T2 y T3 (50 ml, 100 ml y 150 ml del inoculo inicial respectivamente). Por otro lado, el tratamiento T1 generó un menor asentamiento de las cigotosporas.

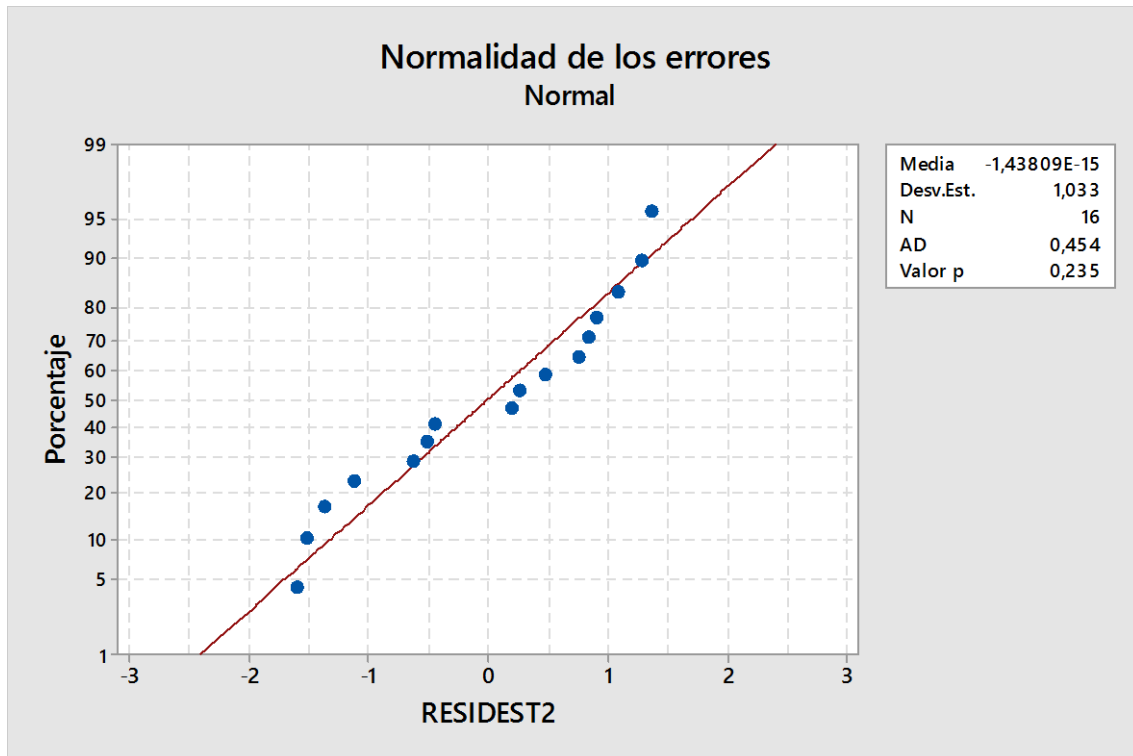
Anexo 12: Análisis estadísticos de la germinación de las cigotosporas

Prueba de normalidad (Anderson Darling) para la variable “densidad de siembra”.

HIPOTESIS:

H₀: Los residuos se distribuyen normalmente

H₁: Los residuos no se distribuyen normalmente



FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	AD = 0,454
P-valor:	0.235 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que los residuos se distribuyen normalmente.

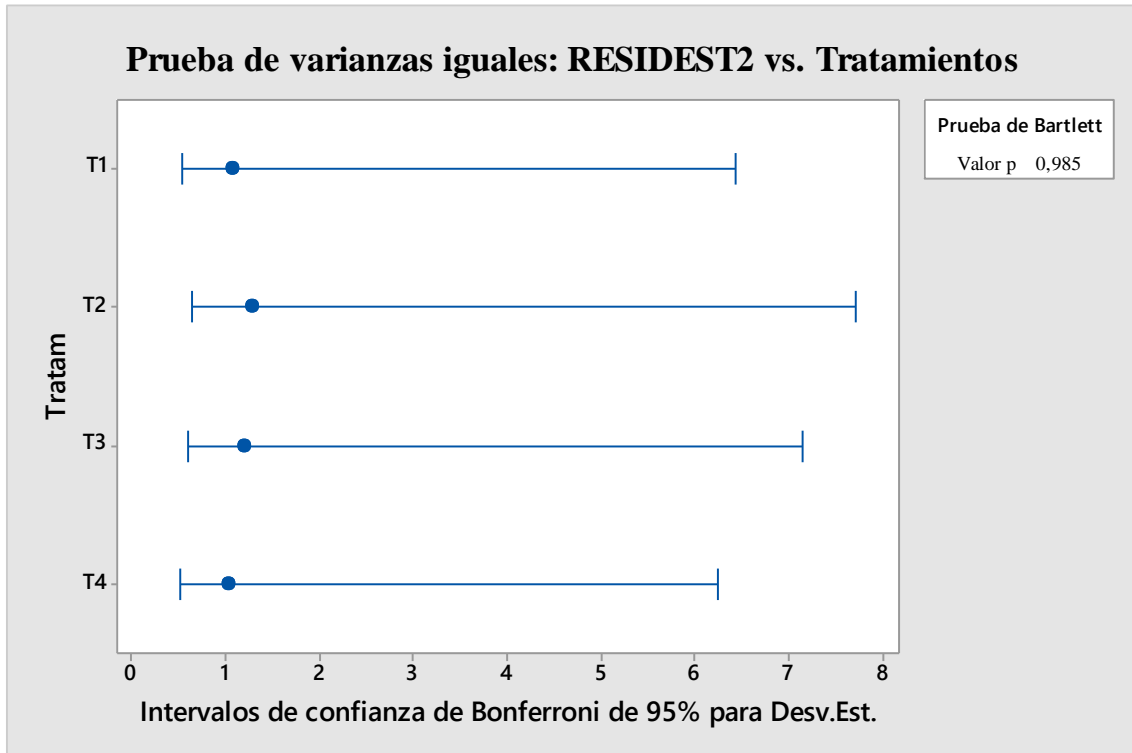
Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett

HIPOTESIS:

H₀: $\delta^2_1 = \delta^2_2 = \delta^2_3 = \delta^2_4$

H₁: Al menos una varianza es diferente

Fuente: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017



CUADRO1

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Bartlett = 7,20
P-valor:	0,985 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que las varianzas son homogéneas.

Como ambos supuestos cumplen, podemos proceder a realizar un DCA:

DCA:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (No hay diferencia significativa entre los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra)

H₁ = al menos un μ_i es diferente. (Al menos una de las densidades de siembra tiene un efecto sobre la germinación de las cigotosporas)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATRAMIENTOS	3	8047851	2682617	1268,51	0,000
Error	12	25377	2115		
Total	15	8073228			

FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Fisher = 1268,51
P-valor:	0,00 < 0.05
Decisión:	SE rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, se rechazó H₀, por lo tanto, podemos decir que al menos uno de los 4 tratamientos (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial) generó un efecto sobre la germinación de las cigotosporas.

Ahora realizamos una prueba TUKEY para saber cuál de las 4 densidades de siembra (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial) genera un mayor asentamiento de las cigotosporas de *Py. columbina*.

PRUEBA TUKEY

HIPÓTESIS:

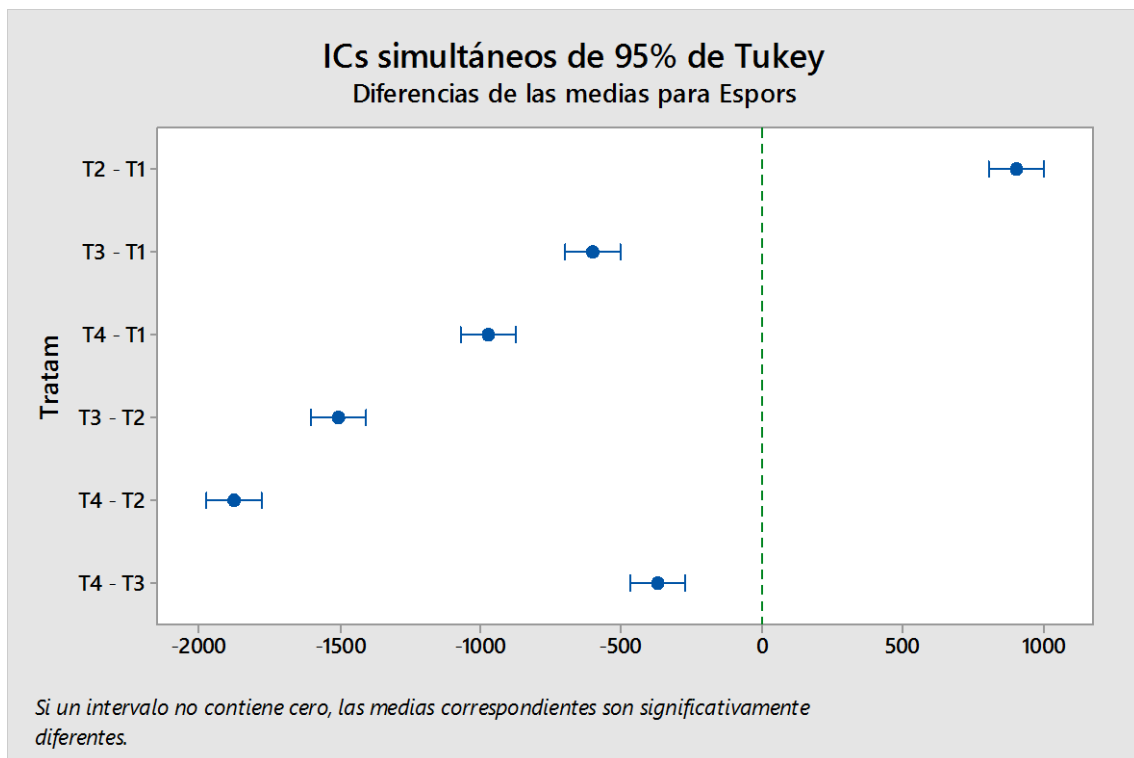
Ho: $\mu_i = \mu_j$

H1: $\mu_i \neq \mu_j$

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
-------------------------	-----------------

Tratamientos	N	Media	Agrupación
T2	4	3364,75	A
T1	4	2462,50	B
T3	4	1858,75	C
T4	4	1489,25	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



CONCLUSIÓN:

A un nivel de significación de 0.05, se obtuvo una mayor germinación de las cigosporas del alga *Py. Columbina* por mm^2 , con el Tratamiento T2 (100 ml del inoculo inicial), el cual difirió significativamente de los demás tratamientos T1, T3 y T4 (50 ml, 100 ml y 150 ml del inoculo inicial respectivamente). Por otro lado, el tratamiento T4 generó una menor germinación de las cigosporas.

Anexo 13: Análisis estadísticos del crecimiento de las colonias de la fase conchocelis

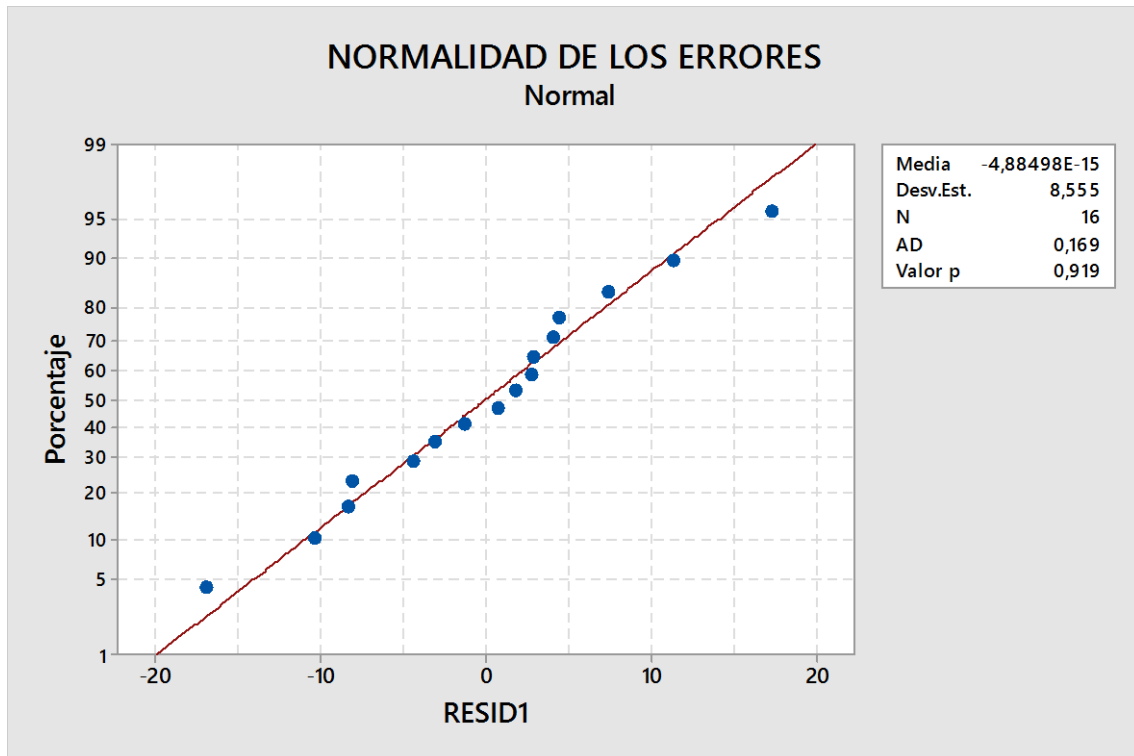
a. Análisis estadísticos del crecimiento de las colonias de fase conchocelis a los 14 días

Prueba de normalidad (Anderson Darling) para la variable “densidad de siembra”.

HIPOTESIS:

H₀: Los residuos se distribuyen normalmente

H₁: Los residuos no se distribuyen normalmente



FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	AD = 0,169
P-valor:	0.919 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H ₀

Conclusión:

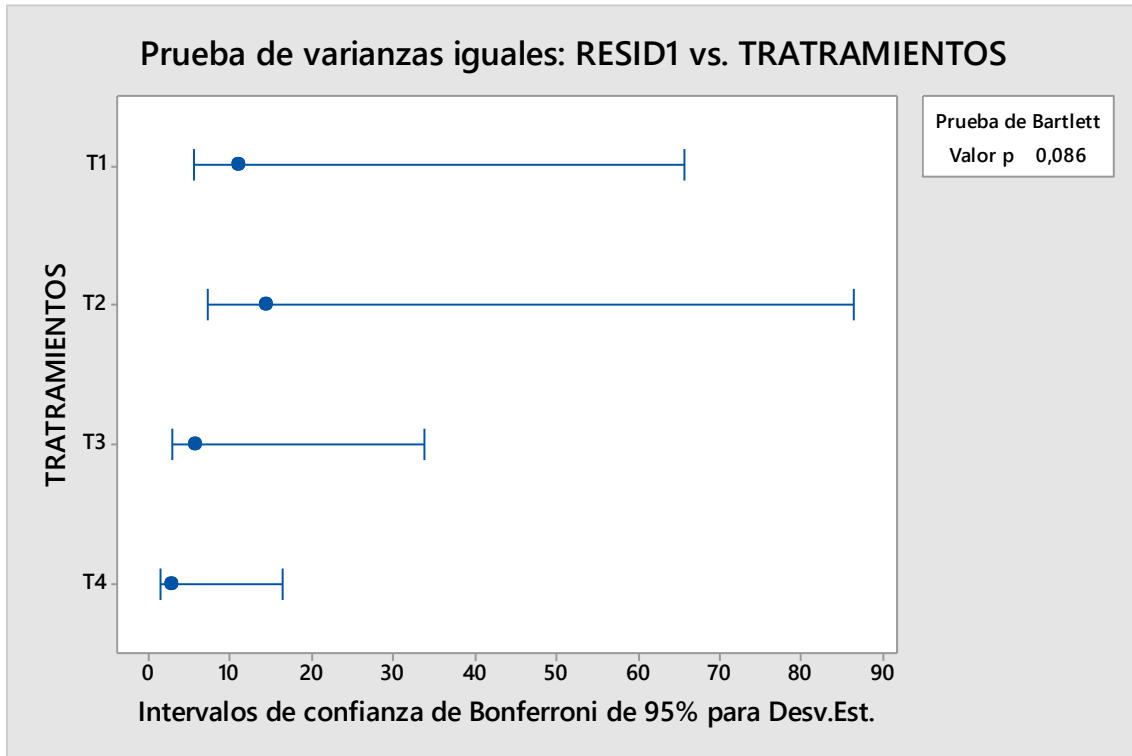
A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que los residuos se distribuyen normalmente.

Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett

HIPOTESIS:

H₀: $\delta^2_1 = \delta^2_2 = \delta^2_3 = \delta^2_4$

H₁: Al menos una varianza es diferente



FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

CUADRO 1

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Bartlett = 6,60
P-valor:	0,086 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que las varianzas son homogéneas.

Como ambos supuestos cumplen, podemos proceder a realizar un DCA:

DCA:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (No hay diferencia significativa entre los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra)

H₁: al menos un μ_i es diferente. (Al menos una de las densidades de siembra tiene un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATRAMIENTOS	3	8847	2949,01	32,24	0,000
Error	12	1098	91,48		
Total	15	9945			

FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Fisher = 32,24
P-valor:	0,00 < 0.05
Decisión:	SE rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, se rechazó H₀, por lo tanto, podemos decir que al menos uno de los 4 tratamientos (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial) generan un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis, expresado en área cubierta.

Ahora realizamos una prueba TUKEY para saber cuál de las 4 densidades de siembra (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial) genera un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*.

PRUEBA TUKEY

HIPÓTESIS:

Ho: $\mu_i = \mu_j$

H1: $\mu_i \neq \mu_j$

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
-------------------------	-----------------

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamientos	N	Media	Agrupación
T2	4	88,5860	A
T1	4	54,2246	B
T3	4	42,3450	B C
T4	4	24,1525	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

CONCLUSIÓN:

A un nivel de significación de 0.05, se obtuvo un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*, expresado en área cubierta (um^2), con el Tratamiento T2 (50 ml del inóculo inicial), el cual difiere significativamente de los demás tratamientos T1, T3 y T4 (50 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial respectivamente). Por otro lado, el tratamiento T1 difieren significativamente respecto al tratamiento T4. Así mismo, el tratamiento T4 genera un menor crecimiento de las colonias de conchocelis.

b. Análisis estadísticos del crecimiento de las colonias de conchocelis a los 21 días

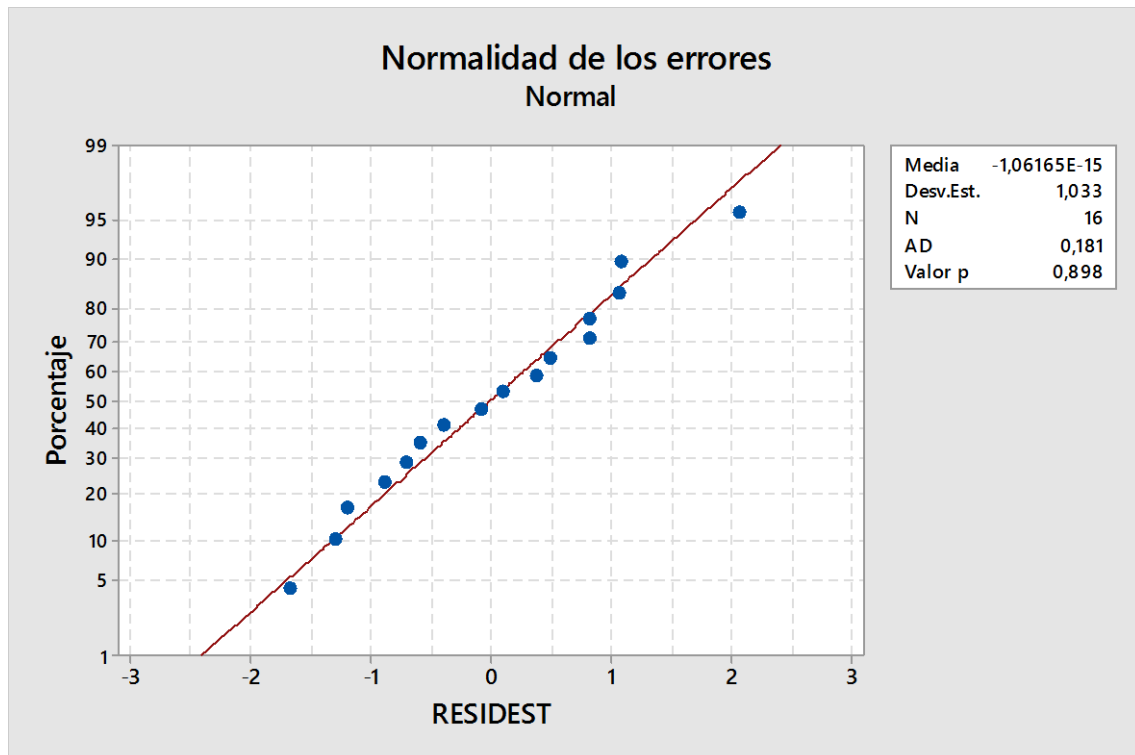
ANVA

Prueba de normalidad (Anderson Darling) para la variable “densidad de siembra”.

HIPOTESIS:

H₀: Los residuos se distribuyen normalmente

H₁: Los residuos no se distribuyen normalmente



FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	AD = 0,181
P-valor:	0.898 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H ₀

Conclusión:

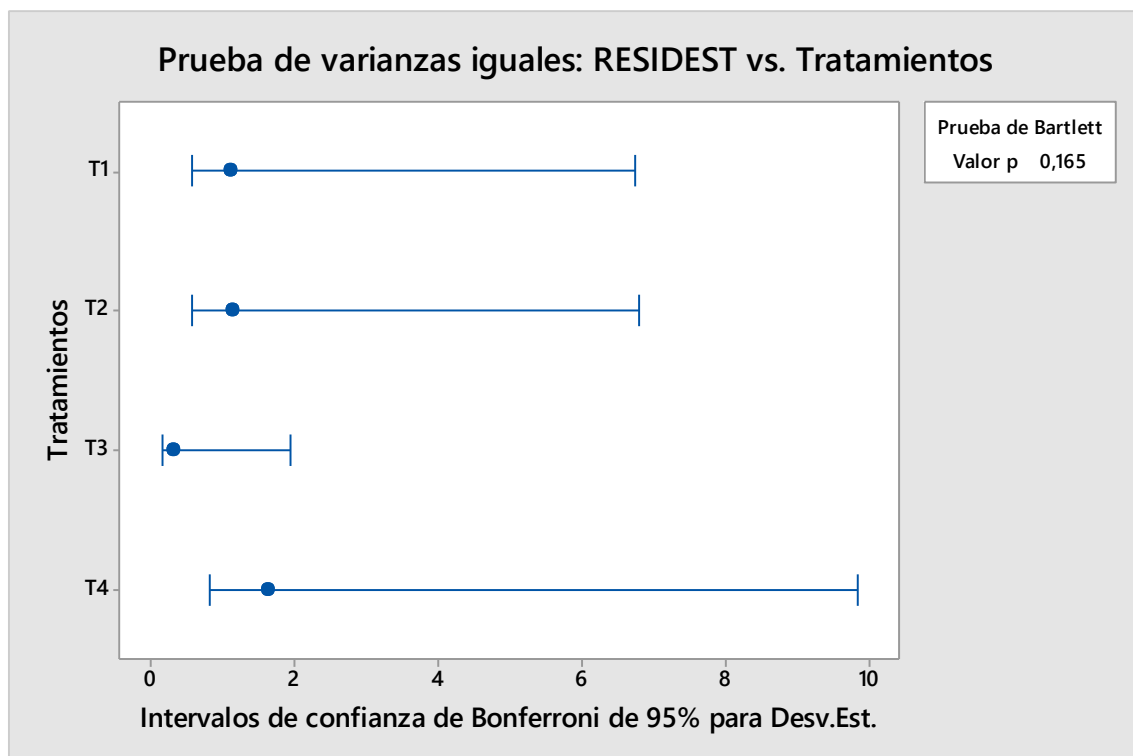
A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que los residuos se distribuyen normalmente.

Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett

HIPOTESIS:

H₀: $\delta^2_1 = \delta^2_2 = \delta^2_3 = \delta^2_4$

H₁: Al menos una varianza es diferente



Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Bartlett = 5,10
P-valor:	0,165 < 0.05
Decisión:	SI se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que las varianzas son homogéneas.

Como ambos supuestos cumplen, podemos proceder a realizar un DCA:

DCA:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (No hay diferencia significativa entre los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra)

H₁: al menos un μ_i es diferente. (Al menos una de las densidades de siembra tiene un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamientos	3	141734	47244,7	350,00	0,000
Error	12	1620	135,0		
Total	15	143354			

FUENTE Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Fisher = 350,00
P-valor:	0,00 < 0.05
Decisión:	SE rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, se rechazó H₀, por lo tanto, podemos decir que al menos uno de los 4 tratamientos (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial) generan un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis, expresado en área cubierta.

Ahora realizamos una prueba TUKEY para saber cuál de las 4 densidades de siembra (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial) genera un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*.

PRUEBA TUKEY

HIPÓTESIS:

Ho: $\mu_i = \mu_j$

H1: $\mu_i \neq \mu_j$

Nivel de significación:

$\alpha = 0.05$

Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = áreas, Término = Tratamientos

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamientos	N	Media	Agrupación
--------------	---	-------	------------

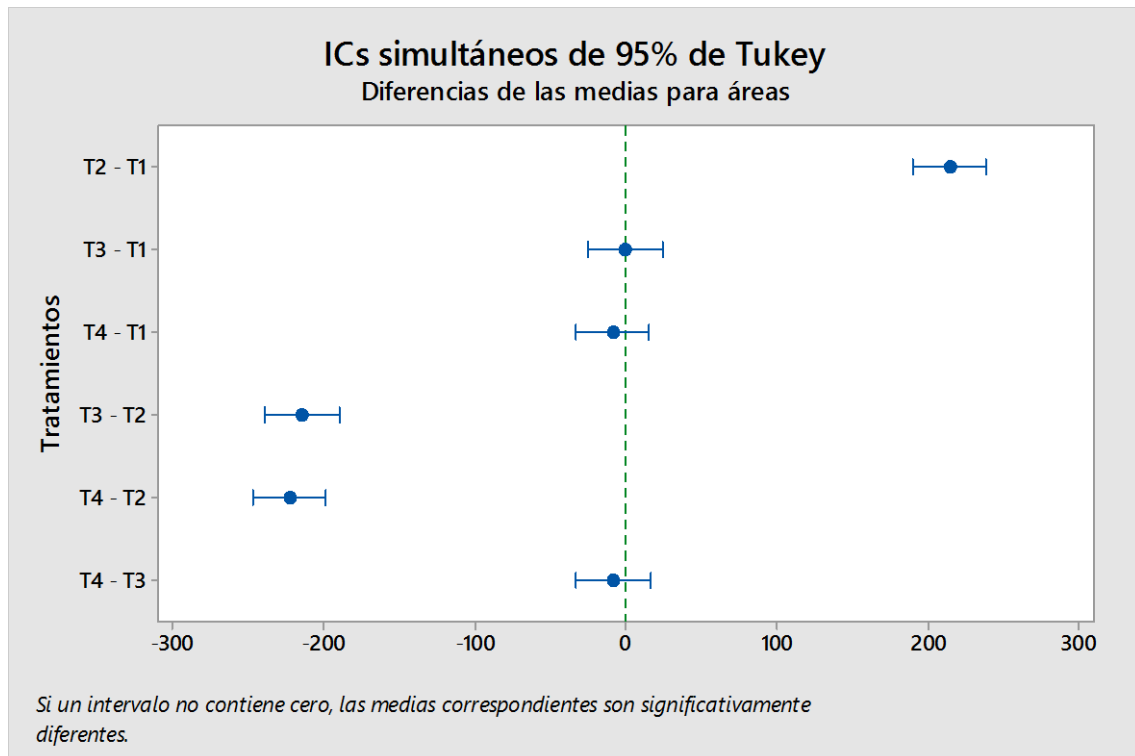
T2	4	414,250	A
----	---	---------	---

T1	4	200,139	B
----	---	---------	---

T3	4	199,626	B
----	---	---------	---

T4	4	191,357	B
----	---	---------	---

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



CONCLUSIÓN:

A un nivel de significación de 0.05, se obtuvo un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*, expresado en área cubierta (um^2), con el Tratamiento T2 (50 ml del inoculo inicial), el cual difiere significativamente de los demás tratamientos T1, T3 y T4 (50 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial respectivamente). Por otro lado los tratamientos T1, T3 y T4 no difieren significativamente entre sí. Así mismo, el tratamiento T4 genera un menor crecimiento de las colonias de conchocelis.

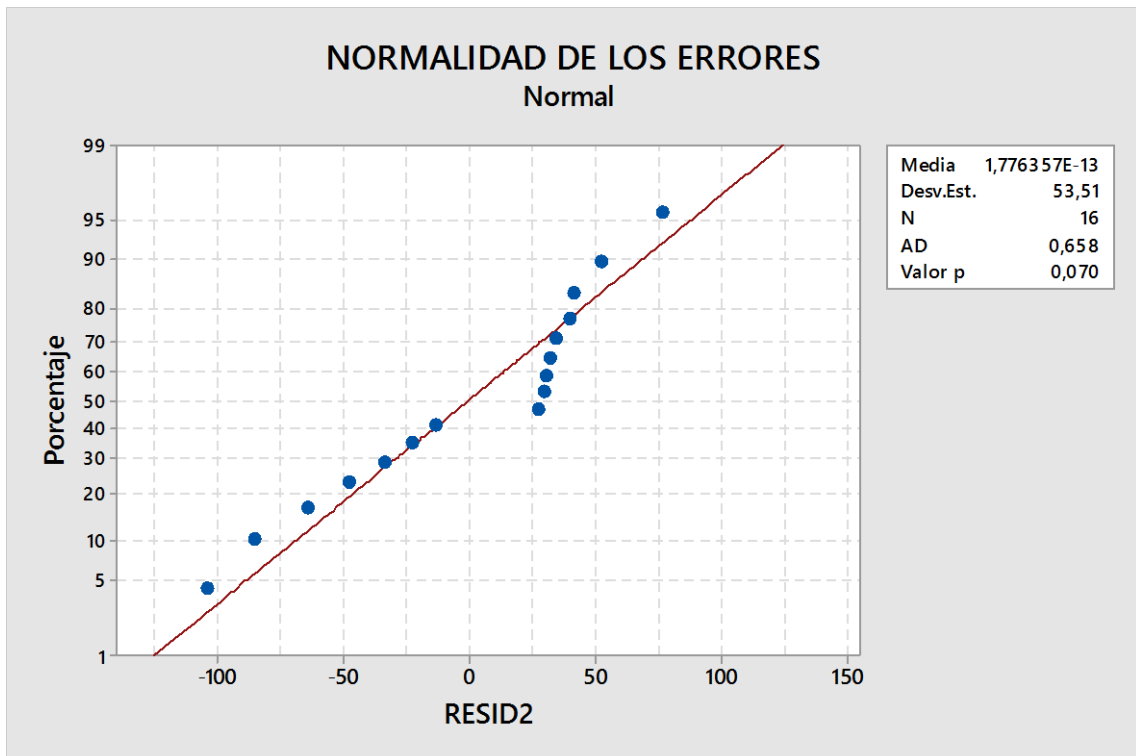
c. Análisis estadísticos del crecimiento de las colonias de conchocelis a los 28 días

Prueba de normalidad (Anderson Darling) para la variable “densidad de siembra”.

HIPOTESIS:

H₀: Los residuos se distribuyen normalmente

H₁: Los residuos no se distribuyen normalmente



Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	AD = 0.658
P-valor:	0.070 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H ₀

Conclusión:

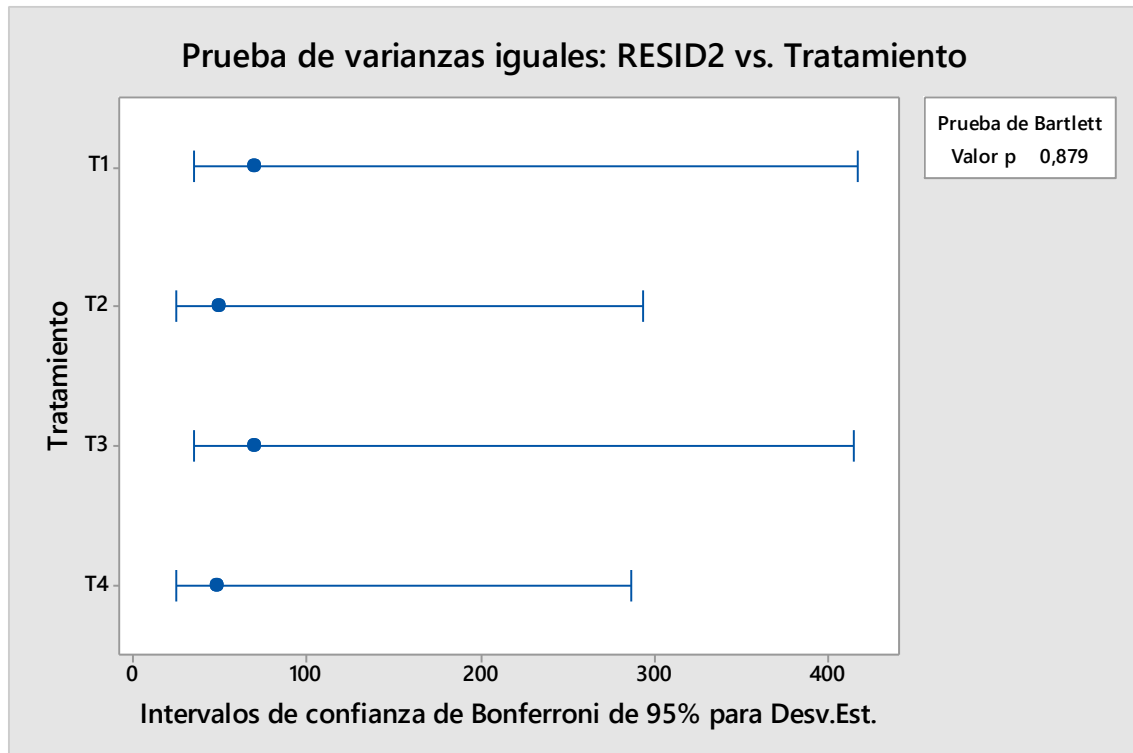
A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que los residuos se distribuyen normalmente.

Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett

HIPOTESIS:

H₀: $\delta^2_1 = \delta^2_2 = \delta^2_3 = \delta^2_4$

H₁: Al menos una varianza es diferente



Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Bartlett = 0,68
P-valor:	0,879 > 0.05
Decisión:	NO se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que las varianzas son homogéneas.

Como ambos supuestos cumplen, podemos proceder a realizar un DCA:

DCA:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (No hay diferencia significativa entre los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra)

H₁ = al menos un μ_i es diferente. (Al menos una de las densidades de siembra tiene un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	3	1820295	606765	169,52	0,000
Error	12	42951	3579		
Total	15	1863246			

FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Fisher = 169,52
P-valor:	0,00 < 0.05
Decisión:	SE rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, se rechazó H₀, por lo tanto, podemos decir que al menos uno de los 4 tratamientos (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial) generan un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis, expresado en área cubierta.

Ahora realizamos una prueba TUKEY para saber cuál de las 4 densidades de siembra (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial) genera un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*.

PRUEBA TUKEY

HIPÓTESIS:

Ho: $\mu_i = \mu_j$

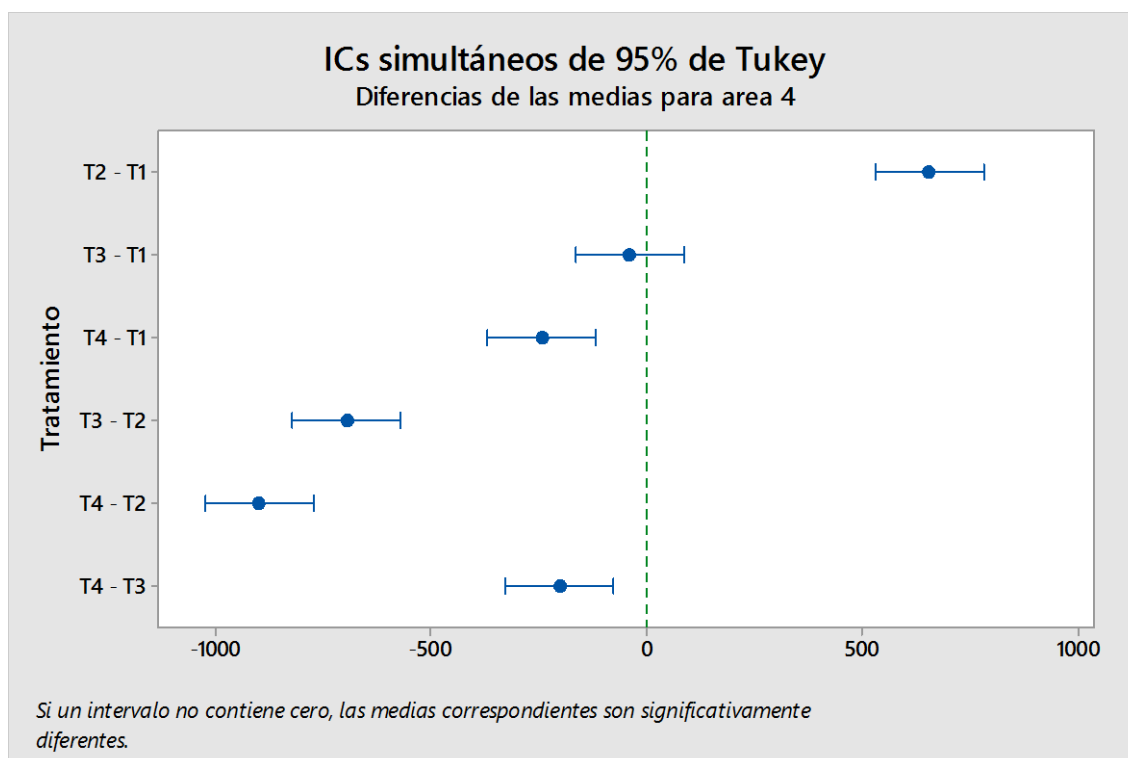
H1: $\mu_i \neq \mu_j$

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
-------------------------	-----------------

Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = area 4, Término = Tratamiento

Tratamientos	N	Media	Agrupación
T2	4	1584,13	A
T1	4	929,37	B
T3	4	888,64	B
T4	4	686,26	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



CONCLUSIÓN:

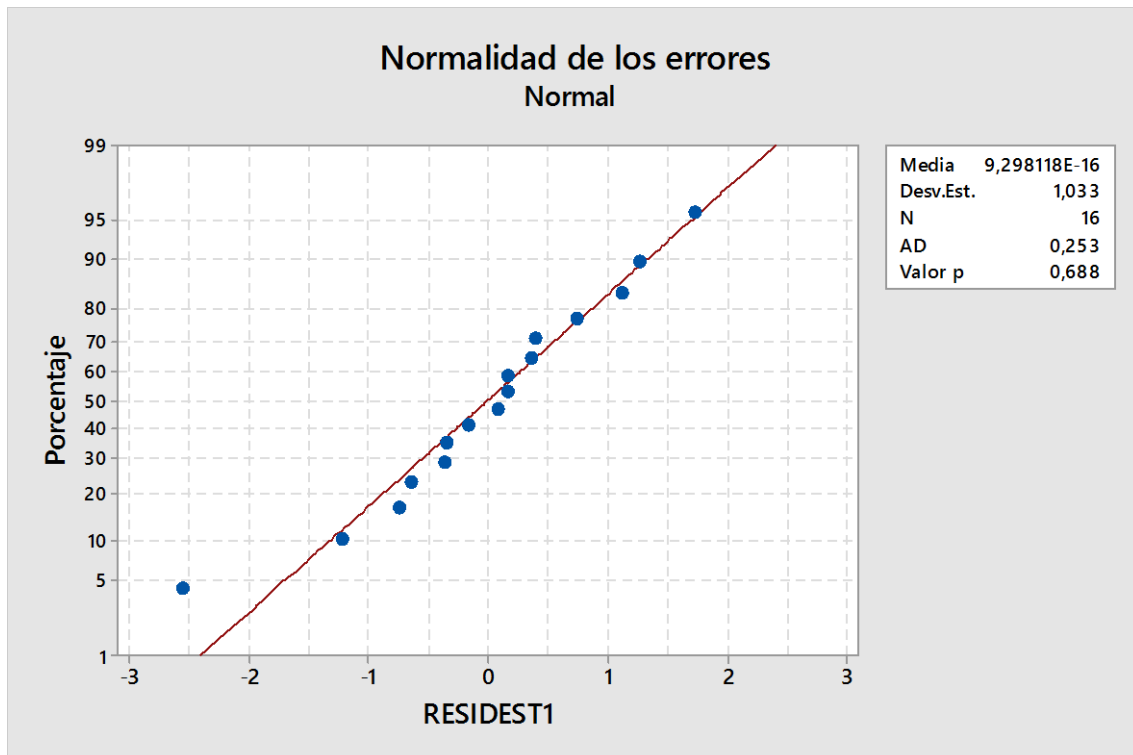
A un nivel de significación de 0.05, se obtuvo un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*, expresado en área cubierta (um^2), con el Tratamiento T2 (50 ml del inóculo inicial), el cual difiere significativamente de los demás tratamientos T1, T3 y T4 (50 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial respectivamente); así mismo los tratamientos T1 y T3 difieren significativamente respecto a T4. El tratamiento T4 genera un menor crecimiento de las colonias de conchocelis.

d. Análisis estadísticos del crecimiento de las colonias de conchocelis a los 35 días.
Prueba de normalidad (Anderson Darling) para la variable “densidad de siembra”.

HIPOTESIS:

H₀: Los residuos se distribuyen normalmente

H₁: Los residuos no se distribuyen normalmente



Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	AD = 0,253
P-valor:	0.688 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H ₀

Conclusión:

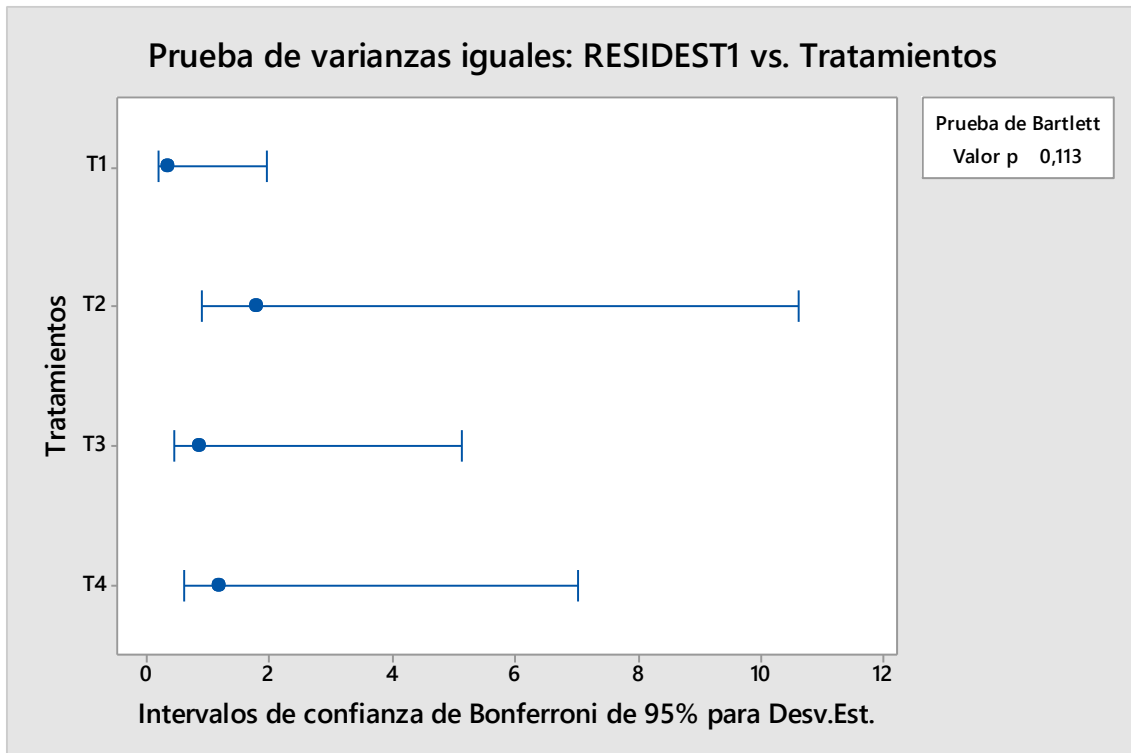
A un nivel de significación de 0.05 existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que los residuos se distribuyen normalmente.

Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett

HIPOTESIS:

H₀: $\delta^2_1 = \delta^2_2 = \delta^2_3 = \delta^2_4$

H₁: Al menos una varianza es diferente



Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Bartlett = 5,96
P-valor:	0,113 > 0.05
Decisión:	NO se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que las varianzas son homogéneas.

Como ambos supuestos cumplen, podemos proceder a realizar un DCA:

DCA:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (No hay diferencia significativa entre los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra)

H₁: al menos un μ_i es diferente. (Al menos una de las densidades de siembra tiene un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	3	1820295	606765	169,52	0,000
Error	12	42951	3579		
Total	15	1863246			

FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Fisher = 169,52
P-valor:	0,00 < 0.05
Decisión:	SE rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, se rechazó H₀, por lo tanto, podemos decir que al menos uno de los 4 tratamientos (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial) generan un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis, expresado en área cubierta.

Ahora realizamos una prueba TUKEY para saber cuál de las 4 densidades de siembra (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial) genera un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*.

PRUEBA TUKEY

HIPÓTESIS:

Ho: $\mu_i = \mu_j$

H1: $\mu_i \neq \mu_j$

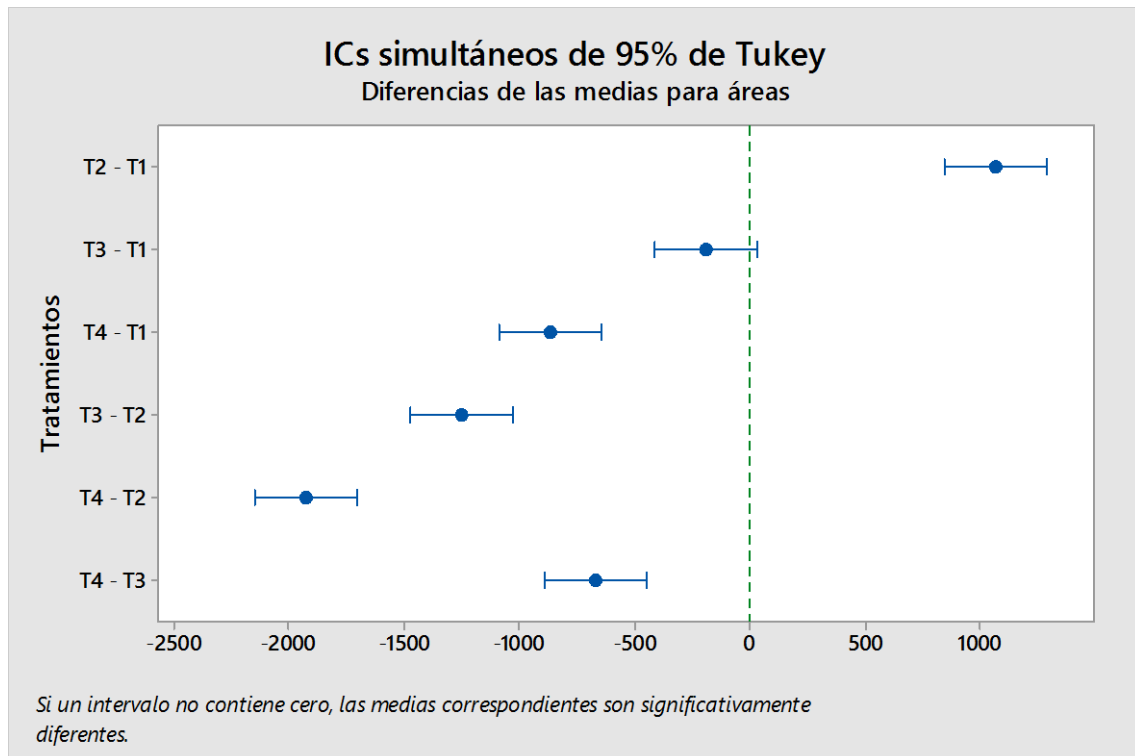
Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
-------------------------	-----------------

Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = area 4, Término = Tratamiento

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamientos	N	Media	Agrupación
T2	4	3041,00	A
T1	4	1976,33	B
T3	4	1785,46	B
T4	4	1112,34	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



CONCLUSIÓN:

A un nivel de significación de 0.05, se obtuvo un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*, expresado en área cubierta (um^2), con el Tratamiento T2 (50 ml del inoculo inicial), el cual difiere significativamente de los demás tratamientos T1, T3 y T4 (50 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial respectivamente); así mismo los tratamientos T1 y T3 (50 ml y 200 ml del inoculo inicial respectivamente) difieren significativamente respecto a T4. El tratamiento T4 genera un menor crecimiento de las colonias de conchocelis.

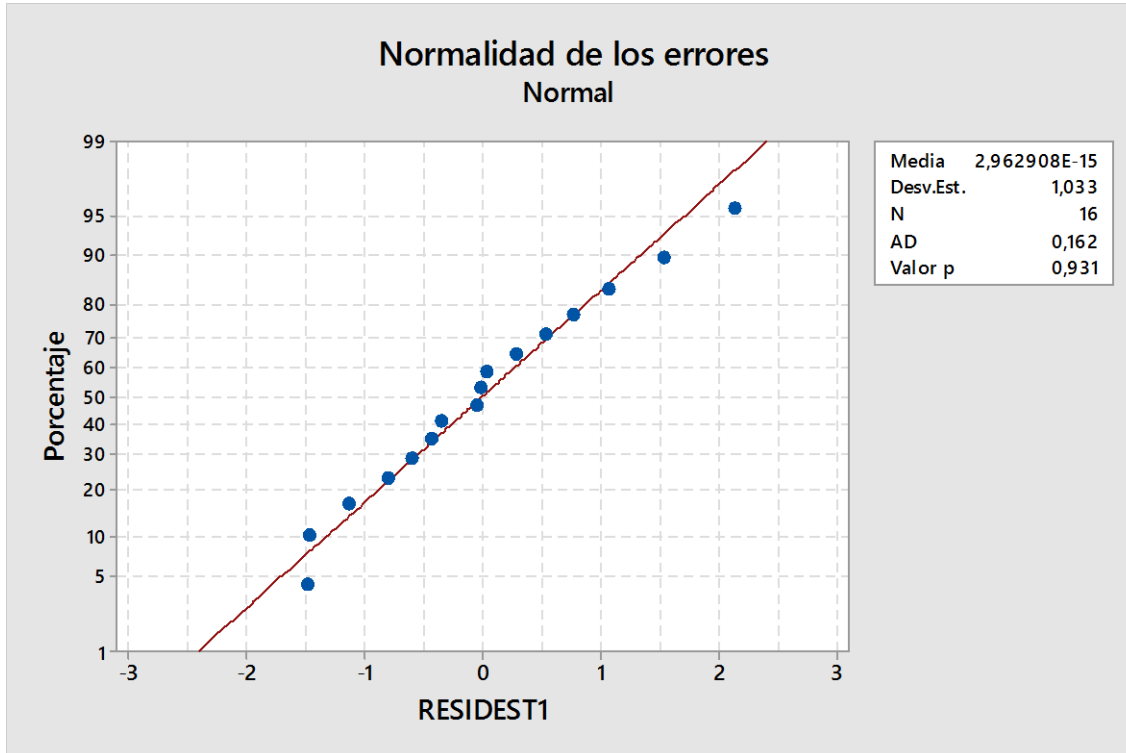
e. Análisis estadísticos del crecimiento de las colonias de conchocelis a los 42 días.

Prueba de normalidad (Anderson Darling) para la variable “densidad de siembra”.

HIPOTESIS:

H₀: Los residuos se distribuyen normalmente

H₁: Los residuos no se distribuyen normalmente



Conclusión:

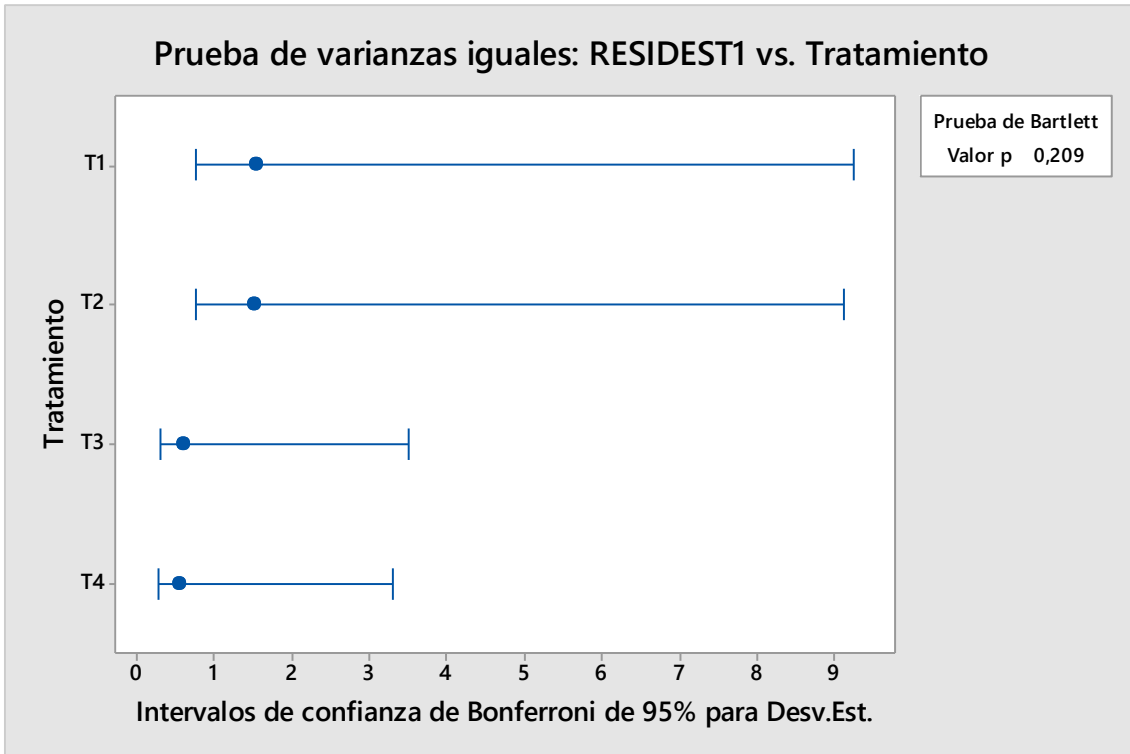
A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que los residuos se distribuyen normalmente.

Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett

HIPOTESIS:

H₀: $\delta^2_1 = \delta^2_2 = \delta^2_3 = \delta^2_4$

H₁: Al menos una varianza es diferente



Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Bartlett = 4,53
P-valor:	0,209 > 0.05
Decisión:	NO se rechaza Ho

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar Ho, por lo tanto, podemos afirmar que las varianzas son homogéneas.

Como ambos supuestos cumplen, podemos proceder a realizar un DCA:

DCA:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (No hay diferencia significativa entre los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra)

H₁: al menos un μ_i es diferente. (Al menos una de las densidades de siembra tiene un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	3	42669137	14223046	287,36	0,000
Error	12	593941	49495		
Total	15	43263079			

FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Fisher = 287,36
P-valor:	0,00 < 0.05
Decisión:	SE rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, se rechazó H₀, por lo tanto, podemos decir que al menos uno de los 4 tratamientos (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial) generan un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis, expresado en área cubierta.

Ahora realizamos una prueba TUKEY para saber cuál de las 4 densidades de siembra (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial) genera un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*.

PRUEBA TUKEY

HIPÓTESIS:

Ho: $\mu_i = \mu_j$

H1: $\mu_i \neq \mu_j$

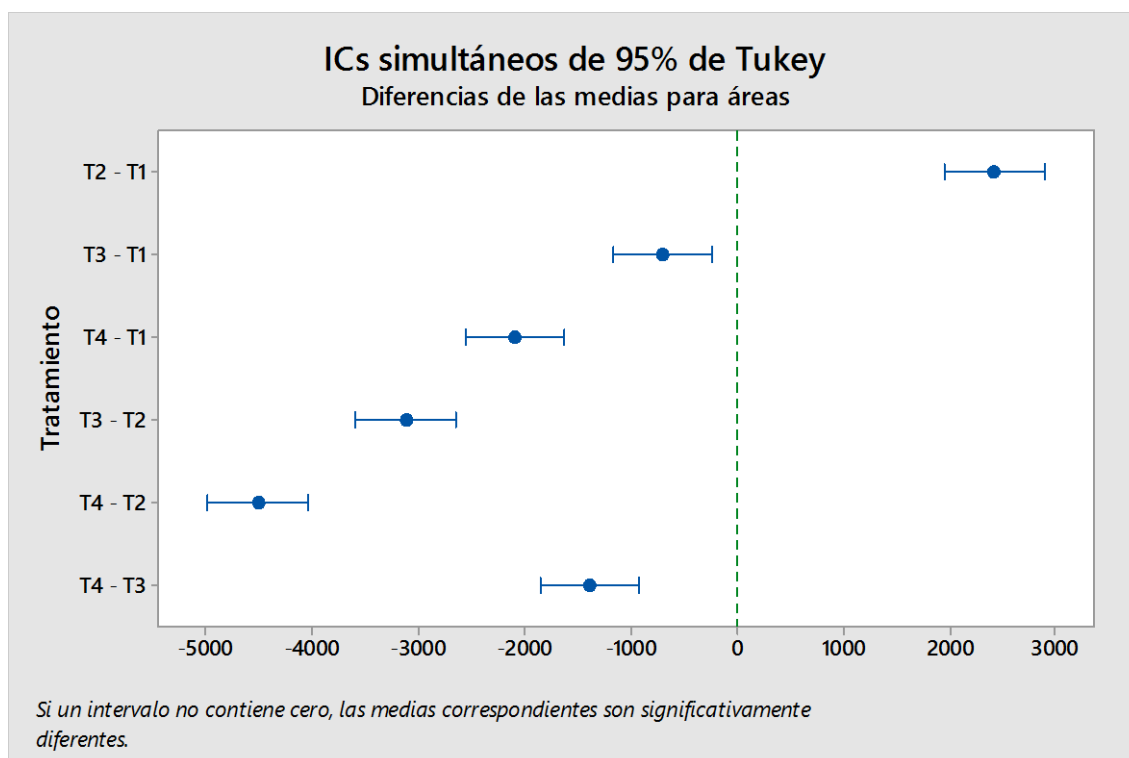
Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
-------------------------	-----------------

Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = áreas, Término = Tratamiento

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamientos	N	Media	Agrupación
T2	4	6708,45	A
T1	4	4288,21	B
T3	4	3590,74	C
T4	4	2201,00	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



CONCLUSIÓN:

A un nivel de significación de 0.05, se obtuvo un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*, expresado en área cubierta (um^2), con el Tratamiento T2 (50 ml del inóculo inicial), el cual difiere significativamente de los demás tratamientos T1, T3 y T4 (50 ml, 150 ml y 200 ml del inóculo inicial respectivamente); así mismo los tratamientos T1, T3 y T4 difieren significativamente entre sí. El tratamiento T4 genera un menor crecimiento de las colonias de conchocelis.

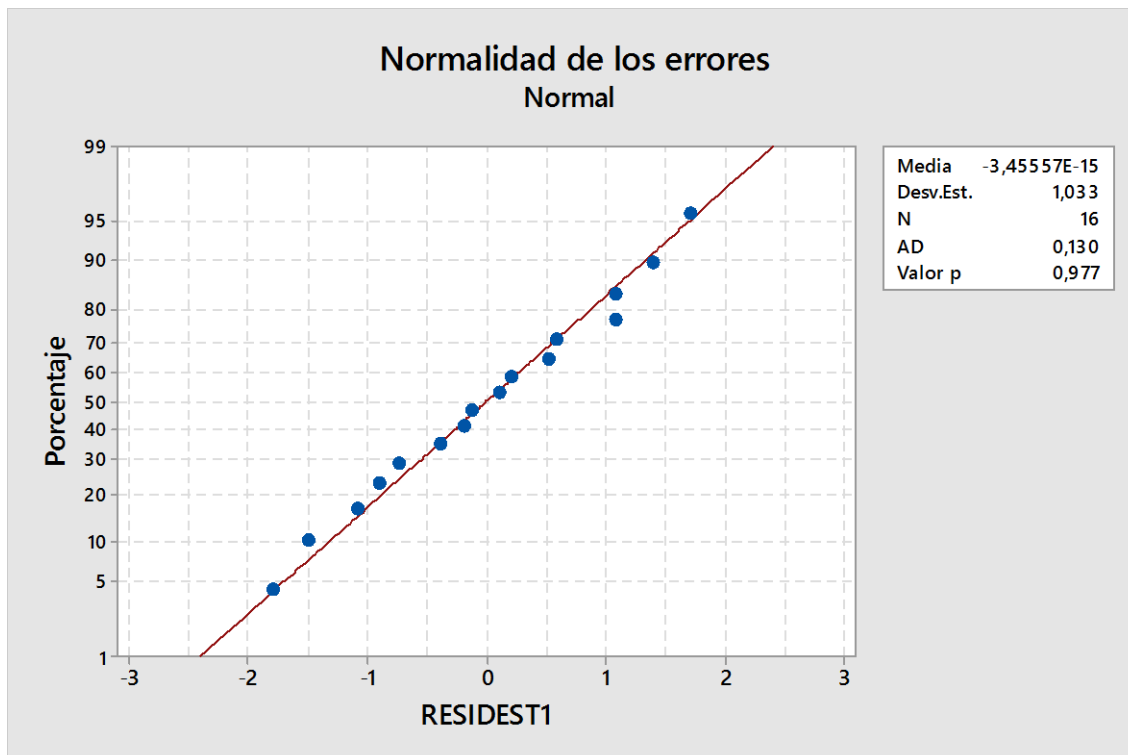
f. Análisis estadísticos del crecimiento de las colonias de conchocelis a los 49 días.

Prueba de normalidad (Anderson Darling) para la variable “densidad de siembra”.

HIPOTESIS:

H₀: Los residuos se distribuyen normalmente

H₁: Los residuos no se distribuyen normalmente



Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	AD = 0.130
P-valor:	0.977 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H ₀

Conclusión:

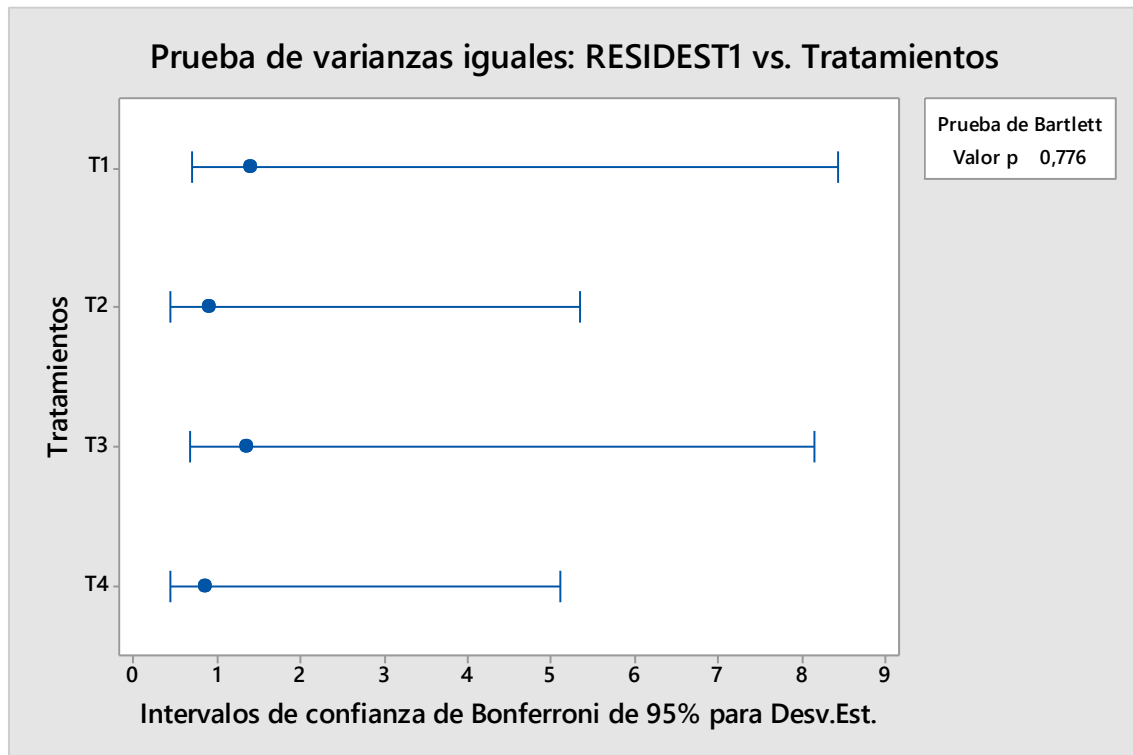
A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que los residuos se distribuyen normalmente.

Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett

HIPOTESIS:

H₀: $\delta^2_1 = \delta^2_2 = \delta^2_3 = \delta^2_4$

H₁: Al menos una varianza es diferente



Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Bartlett = 4,53
P-valor:	0,776 > 0.05
Decisión:	NO se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que las varianzas son homogéneas.

Como ambos supuestos cumplen, podemos proceder a realizar un DCA:

DCA:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (No hay diferencia significativa entre los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra)

H₁ = al menos un μ_i es diferente. (Al menos una de las densidades de siembra tiene un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamientos	3	62437009	20812336	519,50	0,000
Error	12	480748	40062		
Total	15	62917757			

FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Fisher = 519,50
P-valor:	0,00 < 0.05
Decisión:	SE rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, se rechazó H₀, por lo tanto, podemos decir que al menos uno de los 4 tratamientos (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial) generan un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis, expresado en área cubierta.

Ahora realizamos una prueba TUKEY para saber cuál de las 4 densidades de siembra (50 ml, 100 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial) genera un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*.

PRUEBA TUKEY

HIPÓTESIS:

Ho: $\mu_i = \mu_j$

H1: $\mu_i \neq \mu_j$

Nivel de significación:

$\alpha = 0.05$

Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = áreas, Término = Tratamiento

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamientos	N	Media	Agrupación
--------------	---	-------	------------

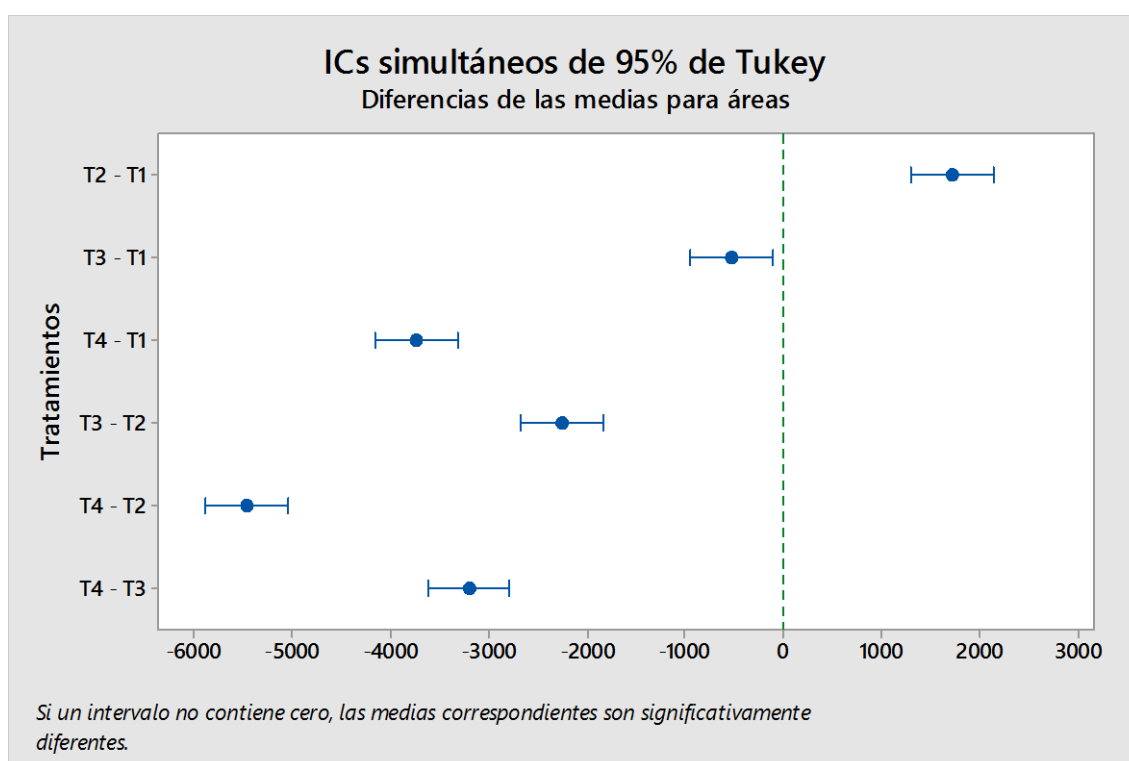
T2	4	8081,25	A
----	---	---------	---

T1	4	6361,00	B
----	---	---------	---

T3	4	5824,62	C
----	---	---------	---

T4	4	2619,69	D
----	---	---------	---

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



CONCLUSIÓN:

A un nivel de significación de 0.05, se obtuvo un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*, expresado en área cubierta (um^2), con el Tratamiento T2 (50 ml del inoculo inicial), el cual difiere significativamente de los demás tratamientos (50 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial respectivamente); así mismo los tratamientos T1, T3 y T4 (50 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial respectivamente) difieren significativamente entre sí. El tratamiento T4 genera un menor crecimiento de las colonias de conchocelis.

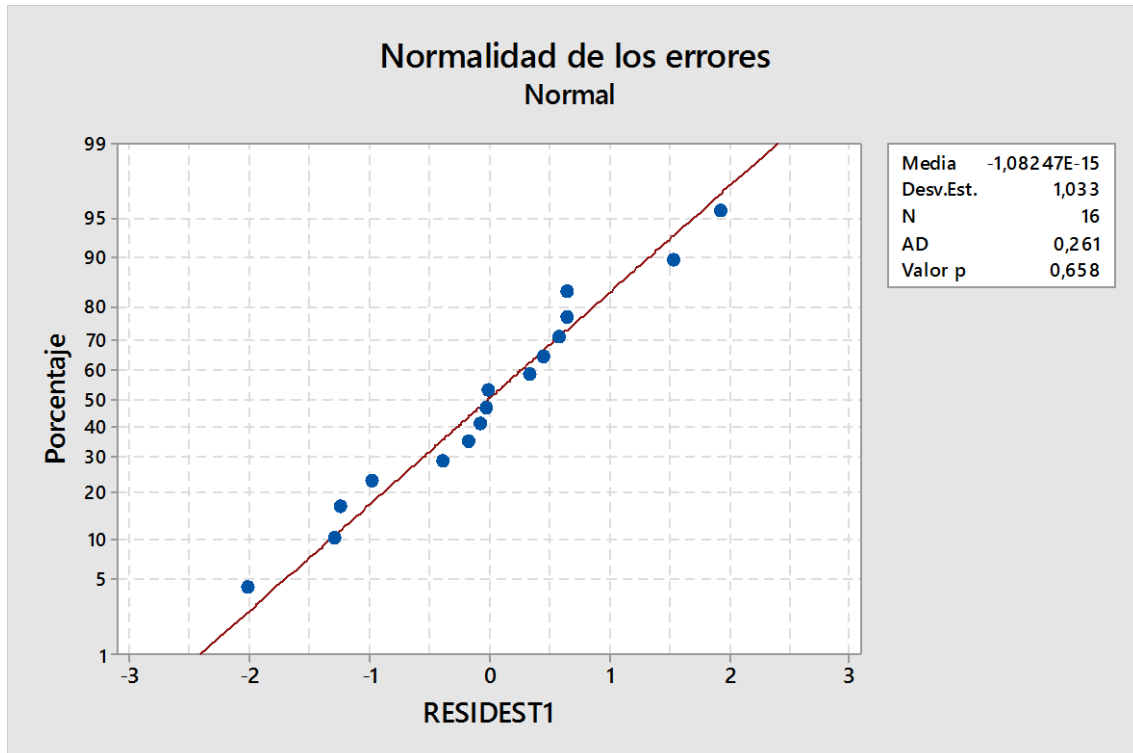
g. Análisis estadísticos del crecimiento de las colonias de conchocelis a los 56 días.

Prueba de normalidad (Anderson Darling) para la variable “densidad de siembra”.

HIPOTESIS:

H₀: Los residuos se distribuyen normalmente

H₁: Los residuos no se distribuyen normalmente



Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	AD = 0.261
P-valor:	0.658 > 0.05
Decisión:	No se rechaza H ₀

Conclusión:

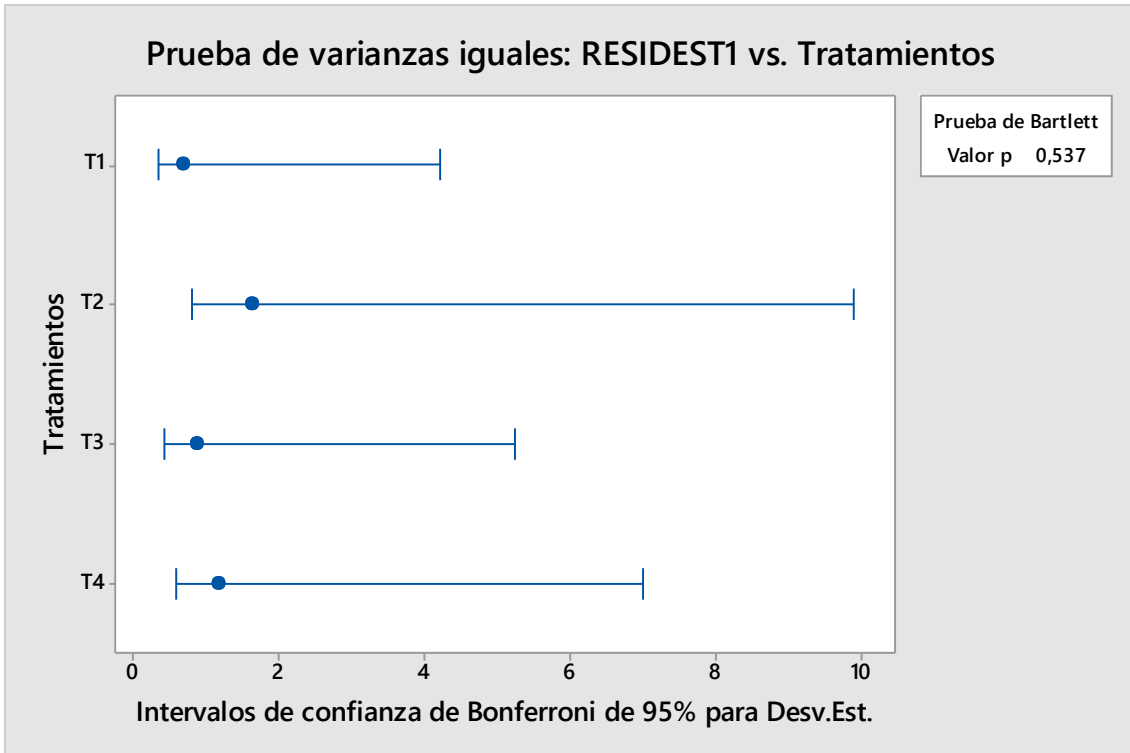
A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que los residuos se distribuyen normalmente.

Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett

HIPOTESIS:

H₀: $\delta^2_1 = \delta^2_2 = \delta^2_3 = \delta^2_4$

H₁: Al menos una varianza es diferente



Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Bartlett = 2,17
P-valor:	0,537 > 0.05
Decisión:	NO se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 no existe evidencia suficiente para rechazar H₀, por lo tanto, podemos afirmar que las varianzas son homogéneas.

Como ambos supuestos cumplen, podemos proceder a realizar un DCA:

DCA:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (No hay diferencia significativa entre los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra)

H₁ = al menos un μ_i es diferente. (Al menos una de las densidades de siembra tiene un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamientos	3	120133209	40044403	212,87	0,000
Error	12	2257410	188117		
Total	15	122390619			

FUENTE: Elaboración propia usando el programa Minitab 2017

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
Estadístico de prueba:	Fisher = 212,87
P-valor:	0,00 < 0.05
Decisión:	SE rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, se rechazó H₀, por lo tanto, podemos decir que al menos uno de los 4 tratamientos (50ml, 100ml, 150ml, 200ml de inóculo inicial) generan un efecto sobre el crecimiento de las colonias de conchocelis, expresado en área cubierta.

Ahora realizamos una prueba TUKEY para saber cuál de las 4 densidades de siembra genera un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*.

PRUEBA TUKEY

HIPÓTESIS:

Ho: $\mu_i = \mu_j$

H1: $\mu_i \neq \mu_j$

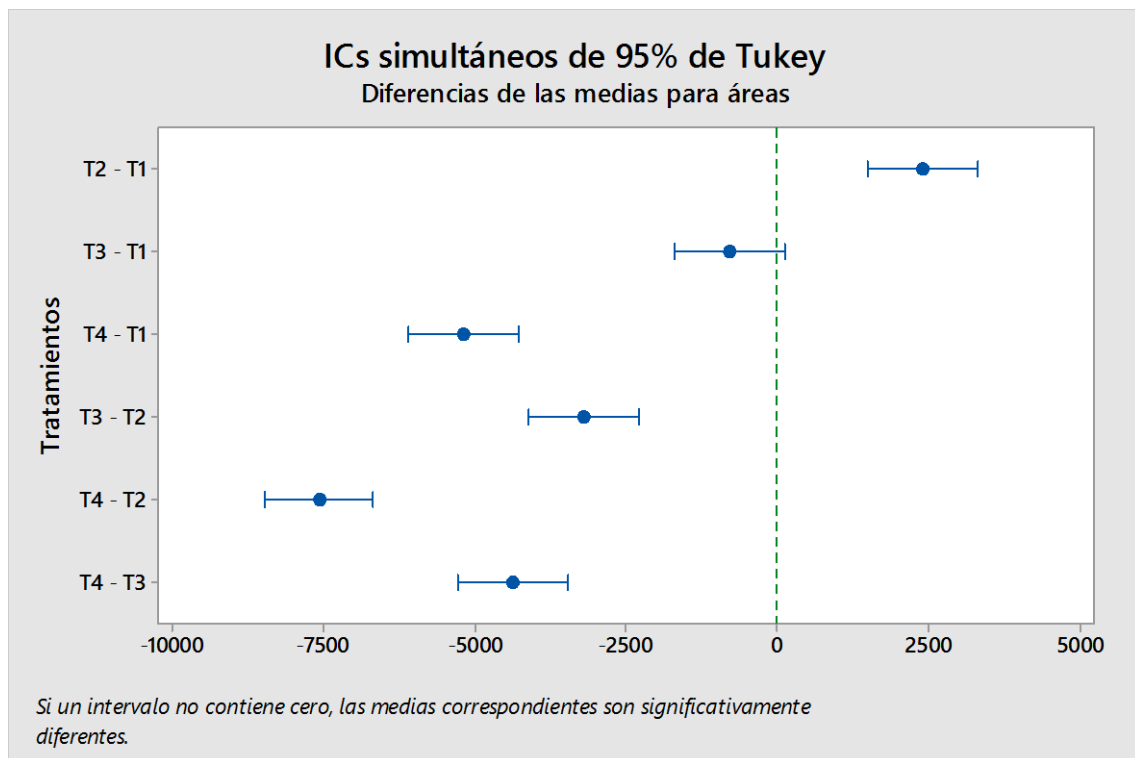
Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
-------------------------	-----------------

Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = áreas, Término = Tratamiento

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamientos	N	Media	Agrupación
T2	4	10797,8	A
T1	4	8397,2	B
T3	4	7596,6	B
T4	4	3217,1	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



CONCLUSIÓN:

A un nivel de significación de 0.05, se obtuvo un mayor crecimiento de las colonias de conchocelis del alga *Py. columbina*, expresado en área cubierta (um^2), con el Tratamiento T2 (50 ml del inoculo inicial), el cual difiere significativamente de los demás tratamientos T1, T3 y T4 (50 ml, 150 ml y 200 ml del inoculo inicial respectivamente); así mismo los tratamientos T1 y T3 difieren significativamente respecto al tratamiento T4. El tratamiento T4 genera un menor crecimiento de las colonias de conchocelis.

Anexo 14: Análisis estadístico del área de influencia de las colonias de Conchocelis desde la semana 6 hasta la semana 8.

Se realizaron modelos lineales generales y mixtos para considerar la heterogeneidad de varianza durante el período analizado. Luego se seleccionó el modelo más apropiado utilizando los valores del criterio de Akaike (AIC) y Schwarz (BIC). Posterior a ello se realizó la prueba de hipótesis marginales y finalmente se realizó una prueba de comparaciones múltiples LSR de FISHER.

Evaluación para la semana 6

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
16	-11.68	-7.80	13.84	0.10	0.98	

Los valores de AIC y BIC menores implican que el modelo es el mejor

Pruebas de hipótesis marginales

Hipótesis:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (el promedio del área de influencia de las colonias de Conchocelis, para los 4 tratamientos son los mismos)

H₁= al menos un μ_i es diferente. (Al menos un promedio de área de influencia de las colonias de Conchocelis es diferente)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	991.76	<0.0001
Tratamientos	3	380.92	<0.0001

Parámetros de la función de varianza

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
P-valor:	0.0001 < 0.05
Decisión:	Sí se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, existe suficiente evidencia estadística para descartar H_0 , es decir, al menos un promedio de área de influencia de las colonias de Conchocelis difiere de los demás tratamientos. Por lo tanto, se procede a realizar la prueba de comparaciones múltiples de Fisher para evaluar la significancia.

Prueba de comparaciones múltiples - LSD FISHER

Tratamientos	Medias	E.E.	
T2	2.38	0.12	A
T1	1.05	0.05	B
T3	0.66	0.03	C
T4	0.08	0.01	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 se concluye que el tratamiento T2 mostró una mayor área de influencia de las colonias de Conchocelis con un promedio de 2.38 cm², seguido del tratamiento T1 con un promedio de 1.05 cm²; así mismo, T2 difirió significativamente de todos los tratamientos. Finalmente, el tratamiento que generó la menor área de influencia fue T4 con 0.08 cm².

Evaluación para la semana 7

Medidas de ajuste del modelo

<u>N</u>	<u>AIC</u>	<u>BIC</u>	<u>logLik</u>	<u>Sigma</u>	<u>R2</u>	<u>0</u>
16	-10.58	-6.70	13.29	0.10	0.99	

Los valores de AIC y BIC menores implican que el modelo es el mejor

Pruebas de hipótesis marginales

Hipótesis:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (el promedio del área de influencia de las colonias de Conchocelis, para los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra, son los mismos)

H₁ = al menos un μ_i es diferente. (Al menos un promedio de área de influencia de las colonias de Conchocelis es diferente)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	2418.96	<0.0001
Tratamientos	3	652.44	<0.0001

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
P-valor:	$0.0001 < 0.05$
Decisión:	Sí se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, existe suficiente evidencia estadística para descartar H₀, es decir, al menos un promedio de área de influencia de las colonias de Conchocelis difiere de los demás tratamientos. Por lo tanto, se procede a realizar la prueba de comparaciones múltiples de Fisher para evaluar la significancia.

Prueba de comparaciones múltiples - LSD FISHER

Tratamientos	Medias	E.E.		
T2	2.83	0.08	A	
T1	1.29	0.05		B
T3	0.75	0.04		C
T4	0.11	0.01		D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05 se concluye que el tratamiento T2 mostró una mayor área de influencia de las colonias de Conchocelis con un promedio de 2.83 cm², seguido del tratamiento T1 con un promedio de 1.29 cm²; así mismo, T2 difirió significativamente de todos los tratamientos. Finalmente, el tratamiento que generó la menor área de influencia fue T4 con 0.11 cm².

Evaluación para la semana 8

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2	0
16	-15.19	-11.31	15.60	0.11	0.99	

Los valores de AIC y BIC menores implican que el modelo es el mejor

Pruebas de hipótesis marginales

Hipótesis:

H₀: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ (el promedio del área de influencia de las colonias de Conchocelis, para los 4 tratamientos con diferentes densidades de siembra, son los mismos)

H₁ = al menos un μ_i es diferente. (Al menos un promedio de área de influencia de las colonias de Conchocelis es diferente)

	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	3506.12	<0.0001
Tratamientos	3	965.84	<0.0001

Nivel de significación:	$\alpha = 0.05$
P-valor:	$0.0001 < 0.05$
Decisión:	Sí se rechaza H ₀

Conclusión:

A un nivel de significación de 0.05, existe suficiente evidencia estadística para descartar H₀, es decir, al menos un promedio de área de influencia de las colonias de Conchocelis difiere de los demás tratamientos. Por lo tanto, se procede a realizar la prueba de comparaciones múltiples de Fisher para evaluar la significancia.

Prueba de comparaciones múltiples - LSD FISHER

Tratamientos	Medias	E.E.	
T2	3.29	0.07	A
T1	1.52	0.06	B
T3	0.86	0.03	C
T4	0.15	3.6E-03	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Conclusión:

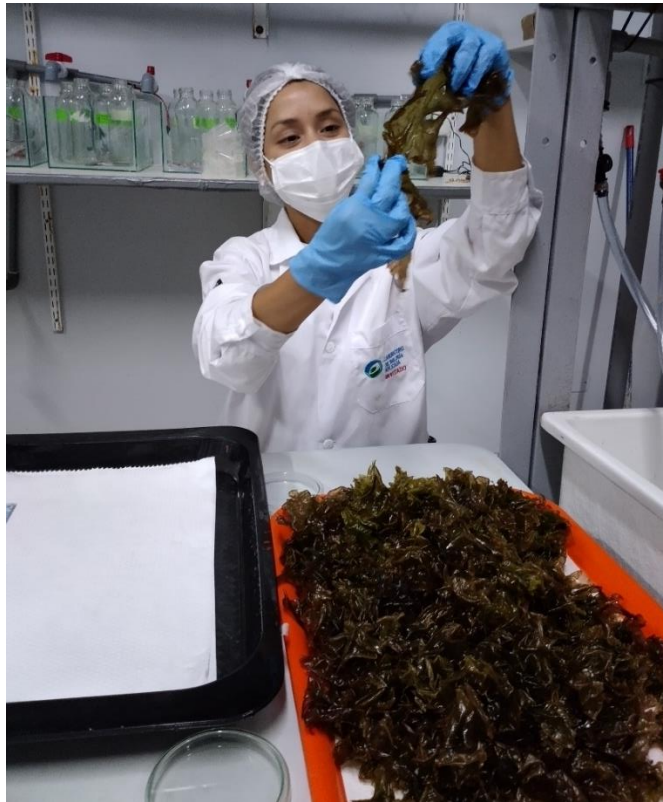
A un nivel de significación de 0.05 se concluye que el tratamiento T2 mostró una mayor área de influencia de las colonias de Conchocelis con un promedio de 3.29 cm², seguido del tratamiento T1 con un promedio de 1.52 cm²; así mismo, T2 difirió significativamente de todos los tratamientos. Finalmente, el tratamiento que generó la menor área de influencia fue T4 con 0.15 cm².

Anexo 15: Colecta de material biológico en Playa Lagunillas



Colecta de material *Py. columbina* en la zona intermareal

Anexo 16: Selección de individuos reproductivos de *Py columbina*



Selección de individuos fértiles de *Py columbina*.

Anexo 17: Corte de áreas reproductivas



Corte de áreas reproductivas del talo de *Py columbina*.

Anexo 18: Preparación del Stock concentrado de esporas (Inoculo inicial)

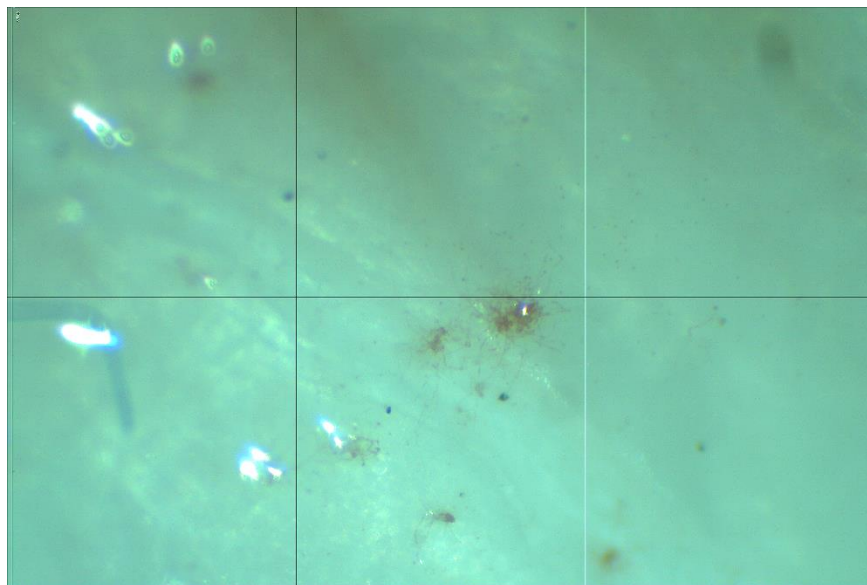


Preparación del inóculo inicial con las áreas seccionadas previamente inducidas al estrés (12 horas a 5°C)

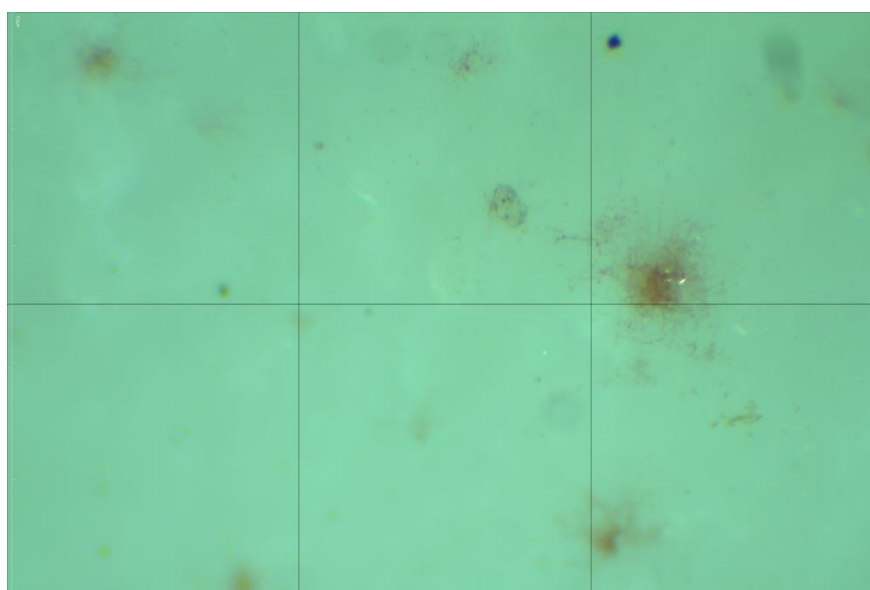


Inducción al estrés del inóculo inicial para la liberación de cigosporas, mediante la exposición a una temperatura de 16°C por 4 horas en oscuridad total.

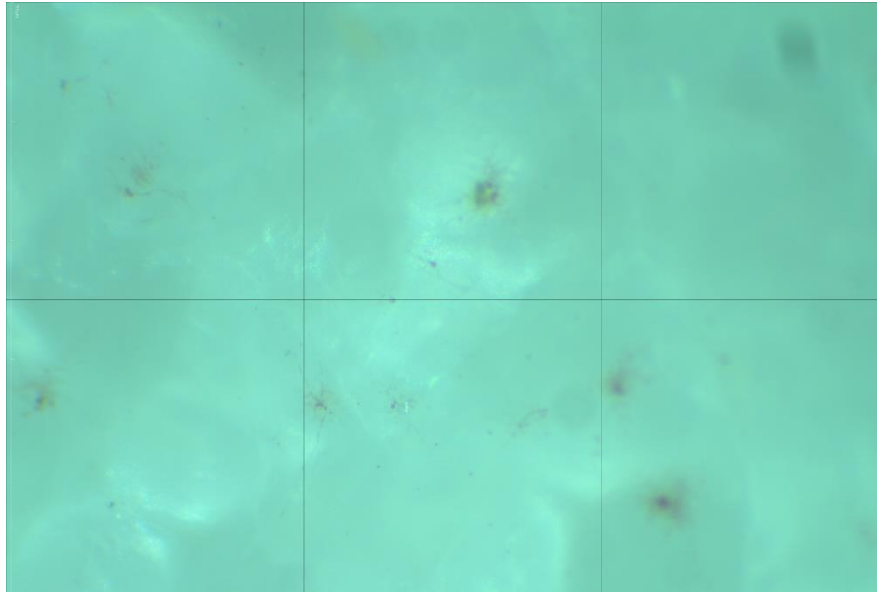
Anexo 19: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 2.



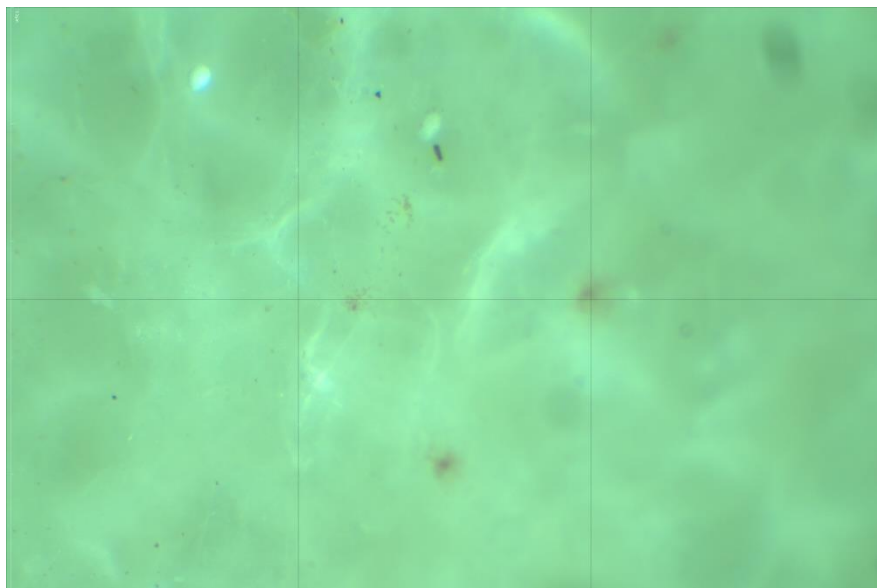
Tratamiento T1



Tratamiento T2

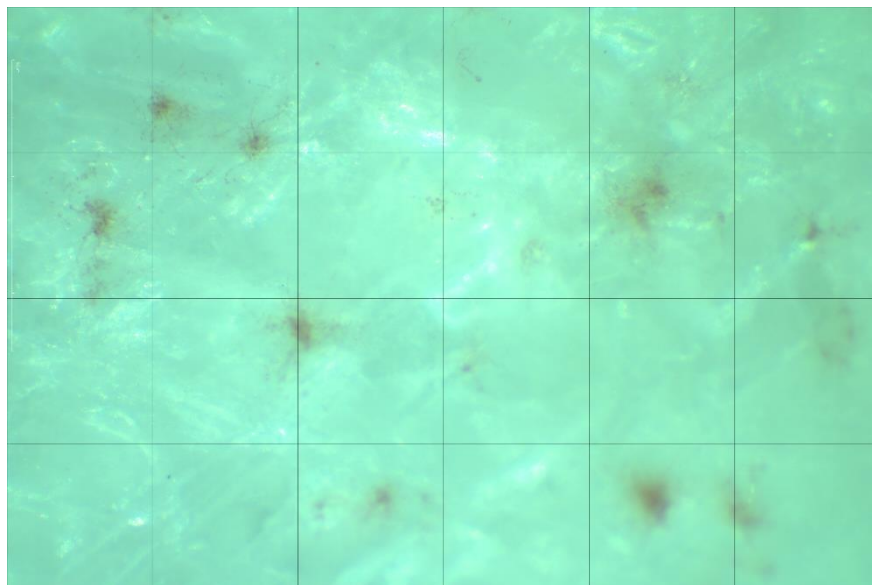


Tratamiento T3

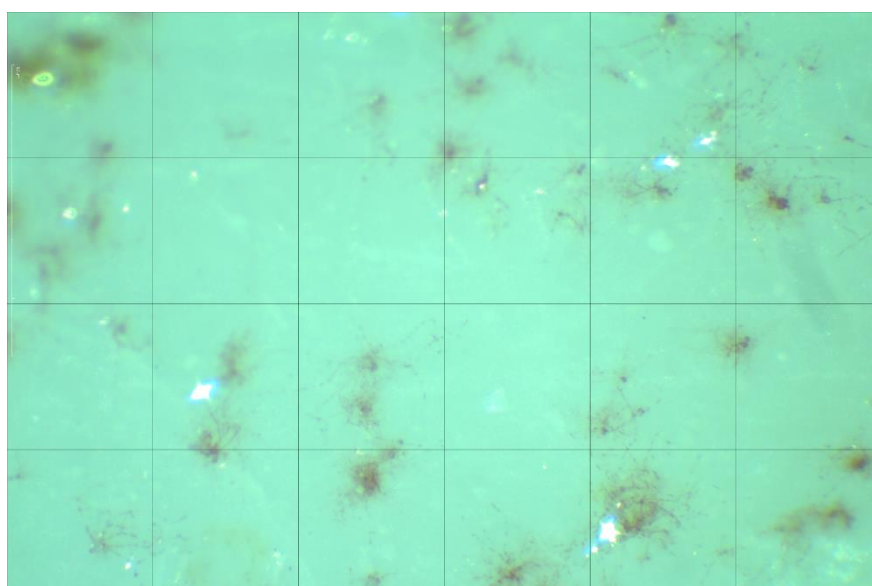


Tratamiento T4

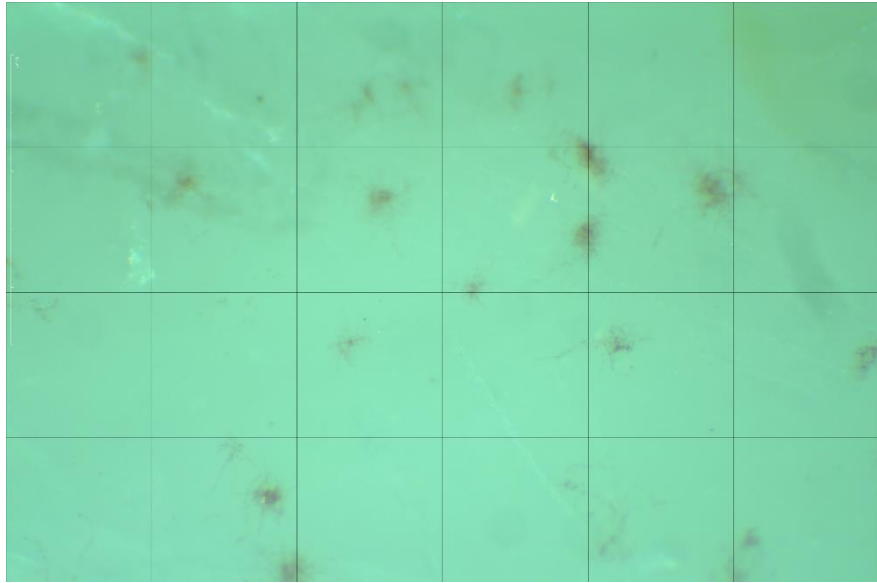
Anexo 20: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 3.



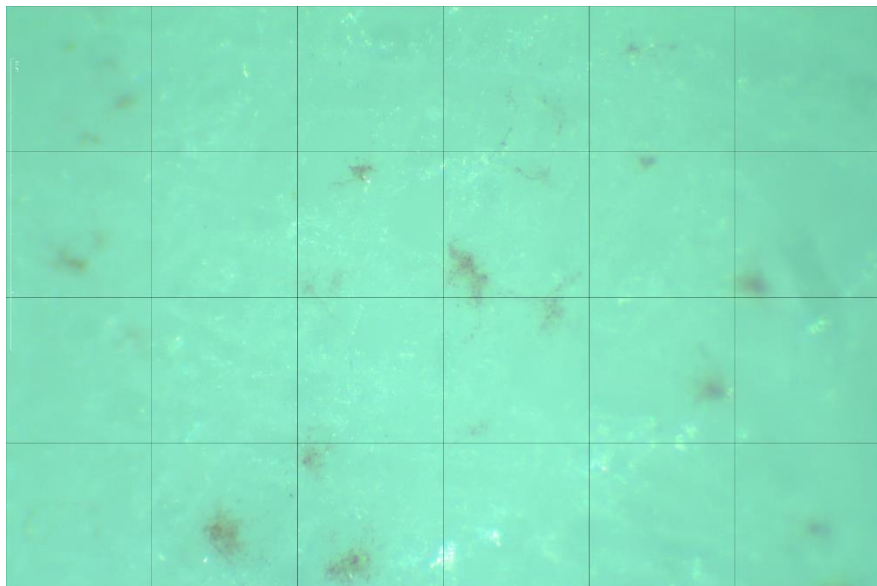
Tratamiento T1



Tratamiento T2

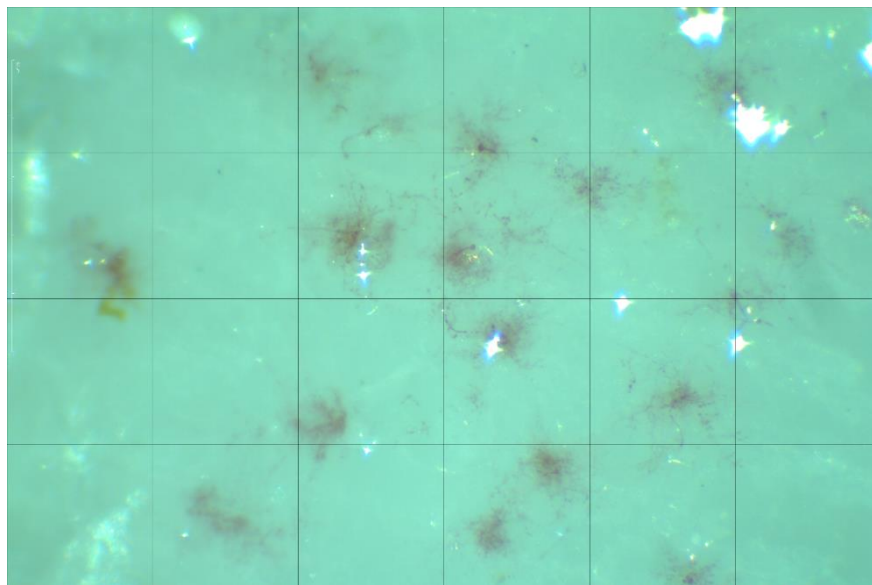


Tratamiento T3

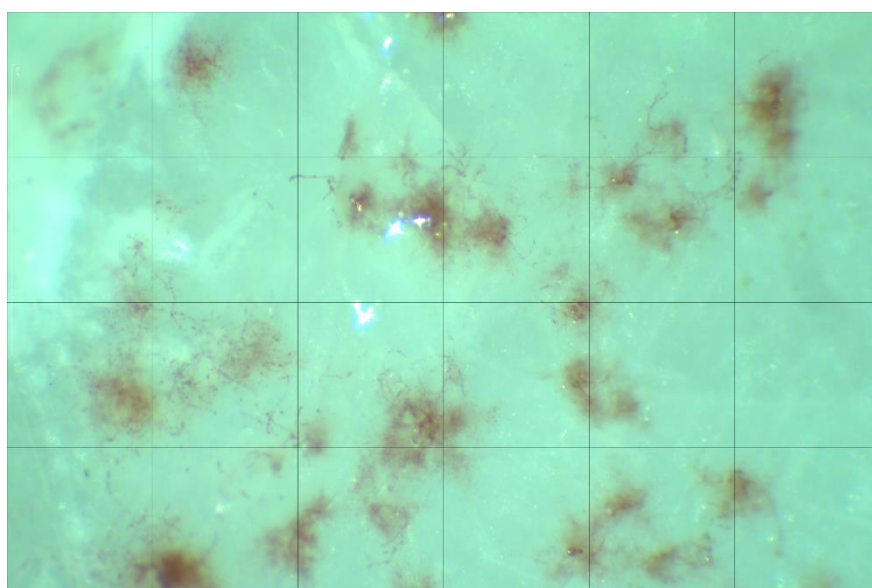


Tratamiento T4

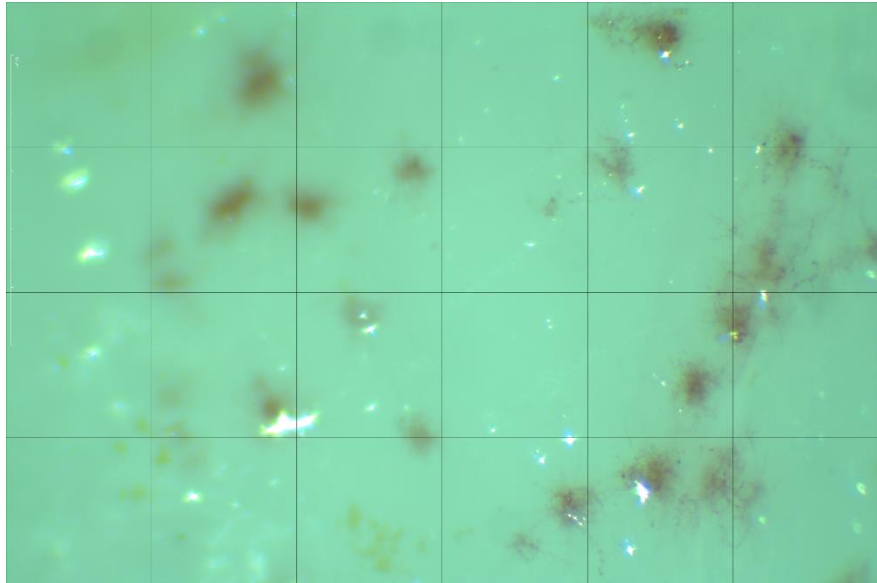
Anexo 21: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 4.



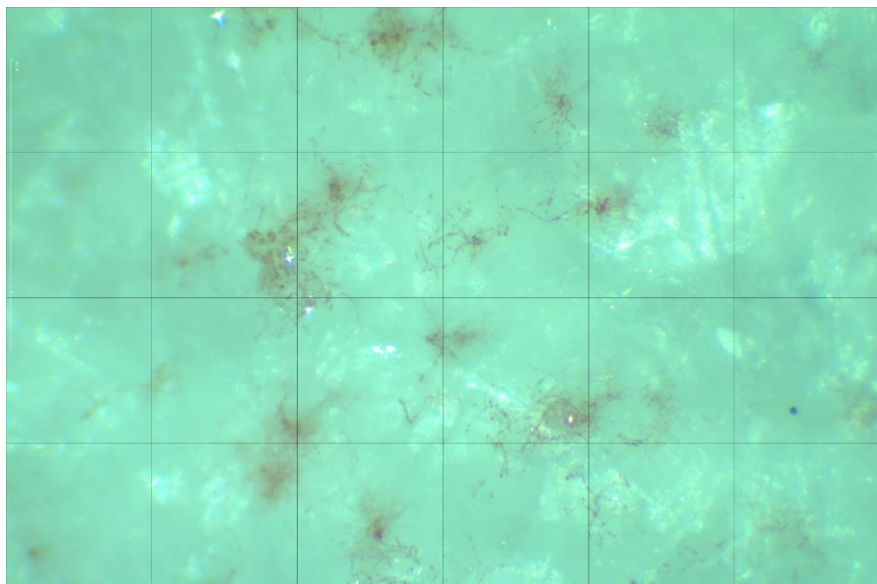
Tratamiento T1



Tratamiento T2

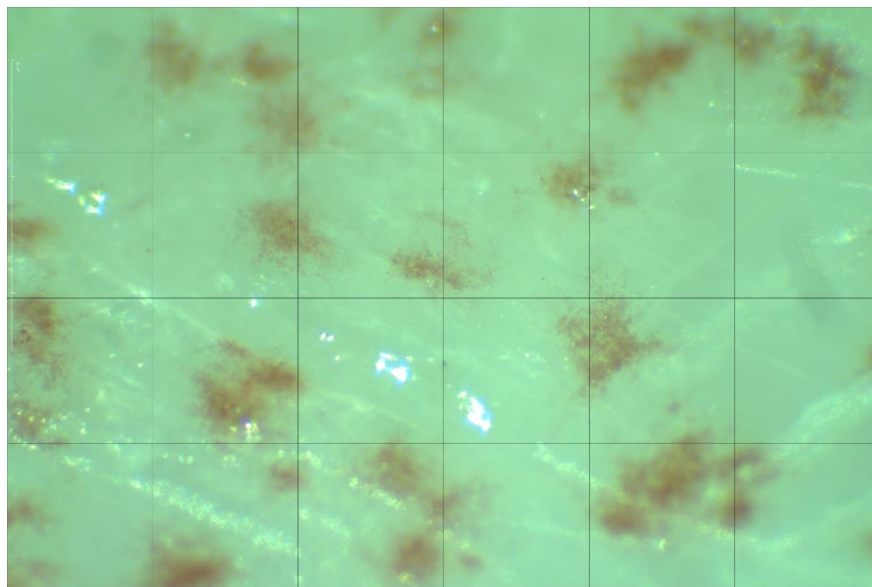


Tratamiento T3

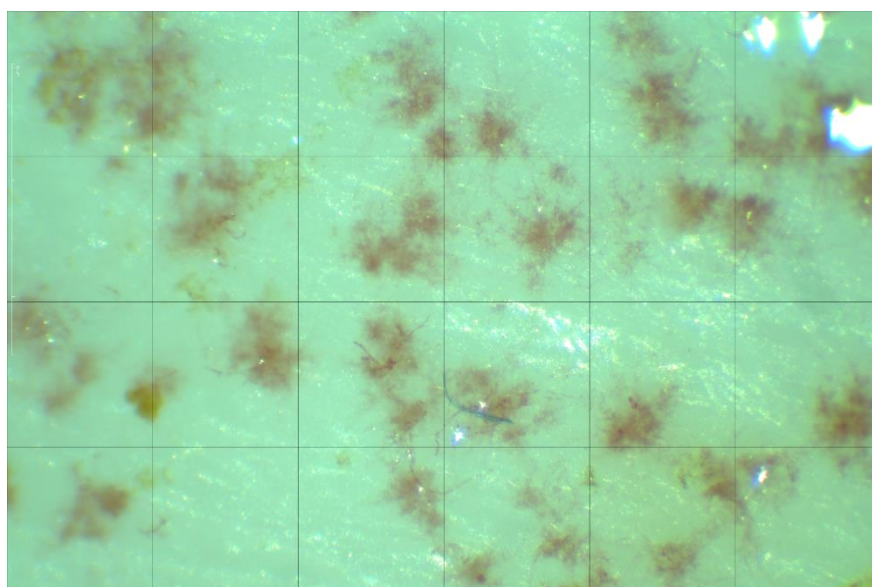


Tratamiento T4

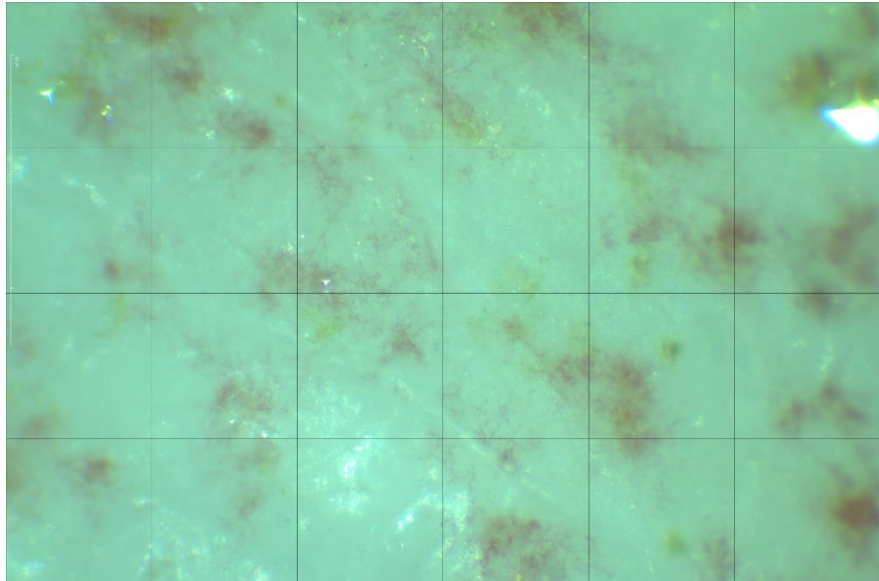
Anexo 22: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 5.



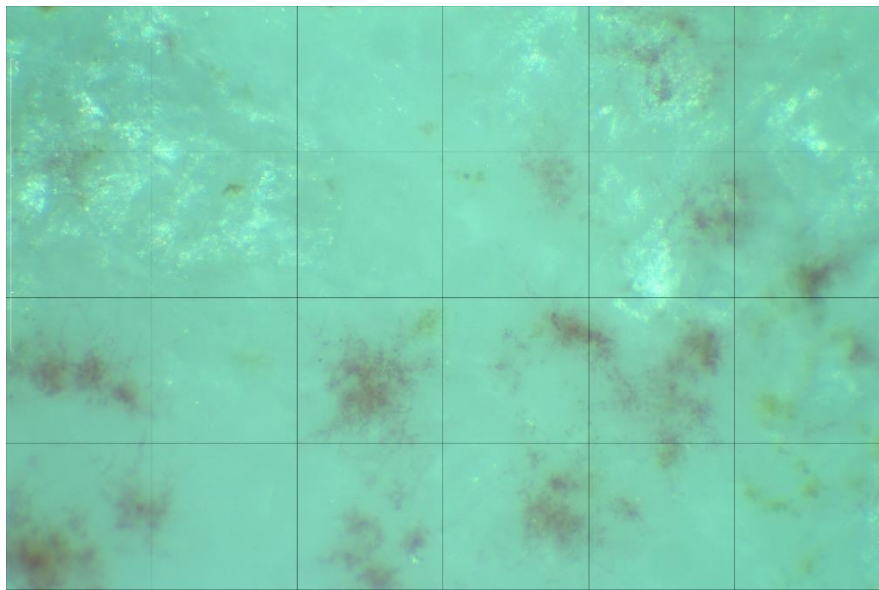
Tratamiento T1



Tratamiento T2

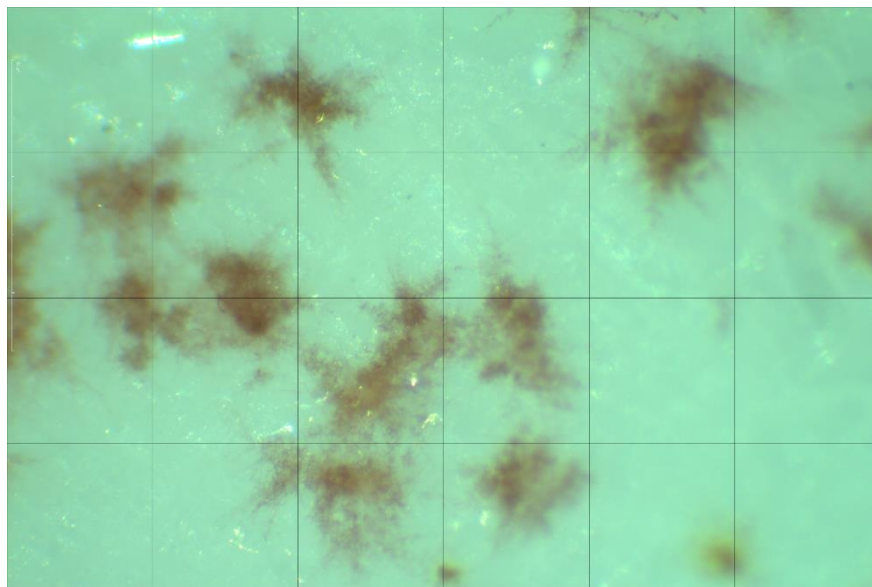


Tratamiento T3

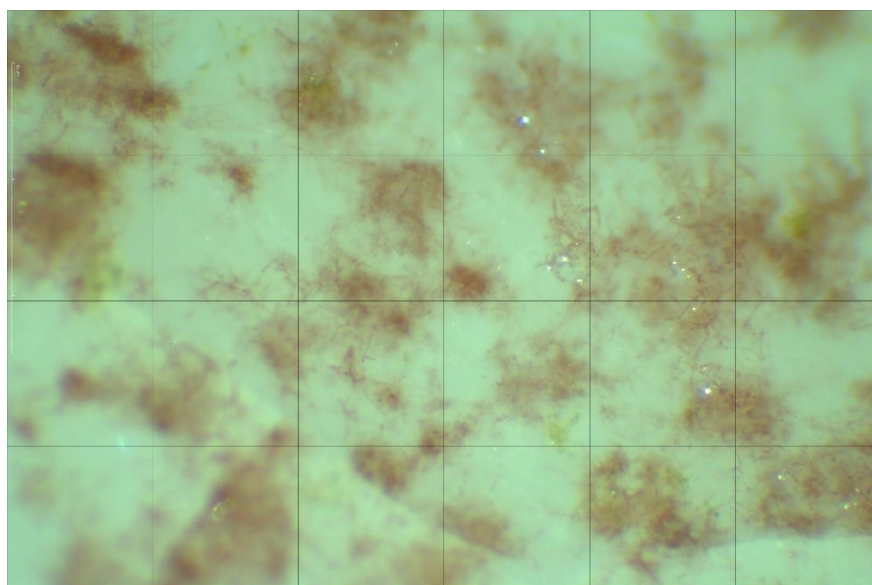


Tratamiento T4

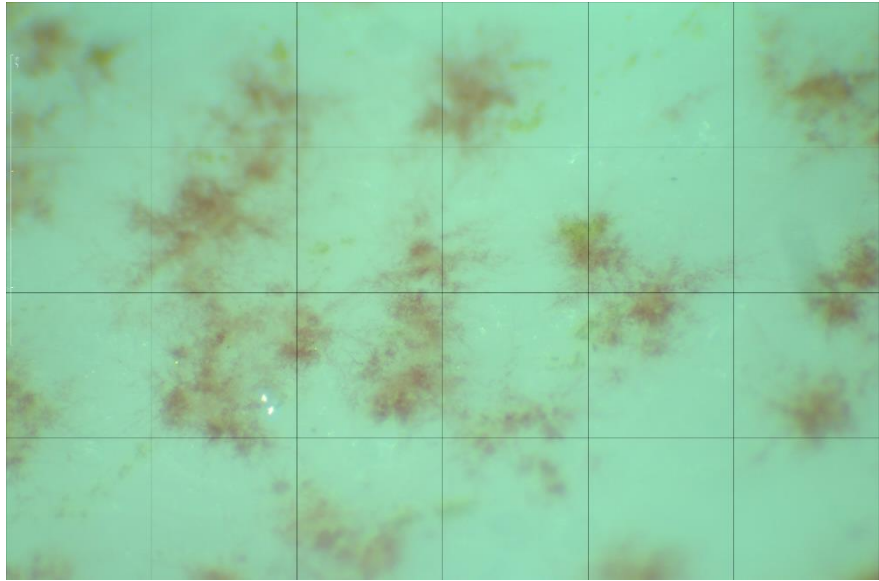
Anexo 23: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 6.



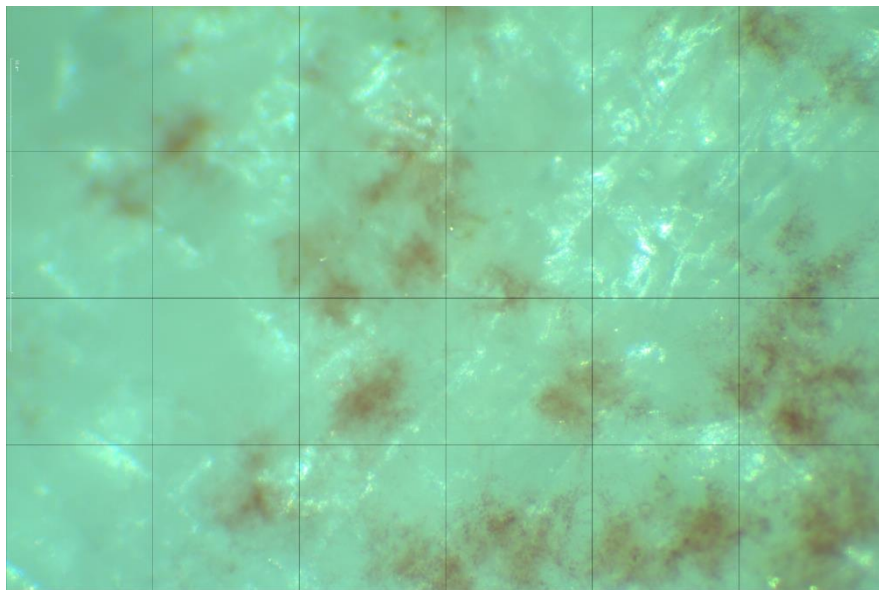
Tratamiento T1



Tratamiento T2

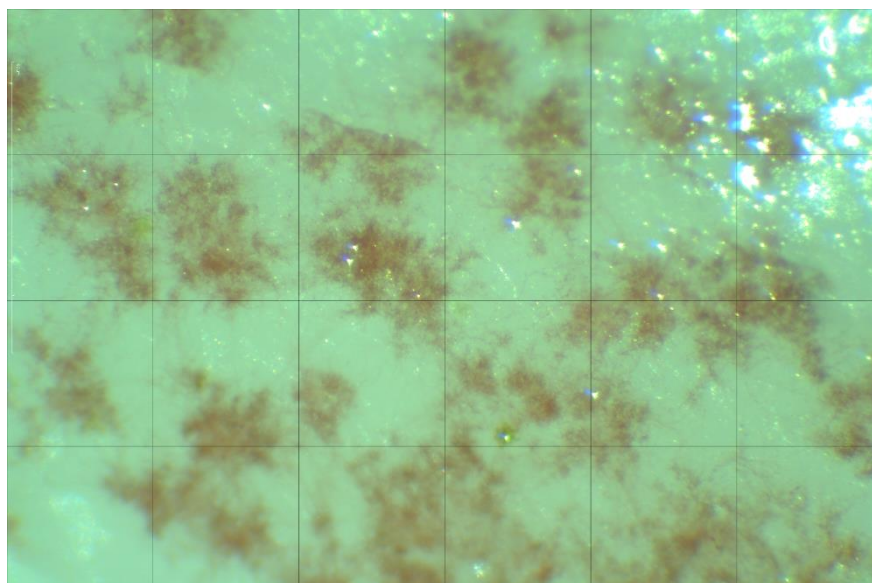


Tratamiento T3

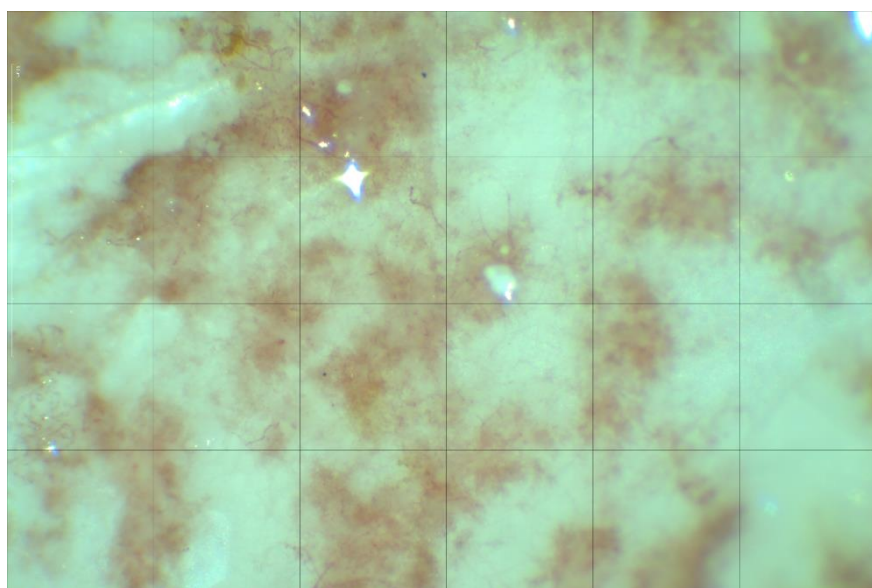


Tratamiento T4

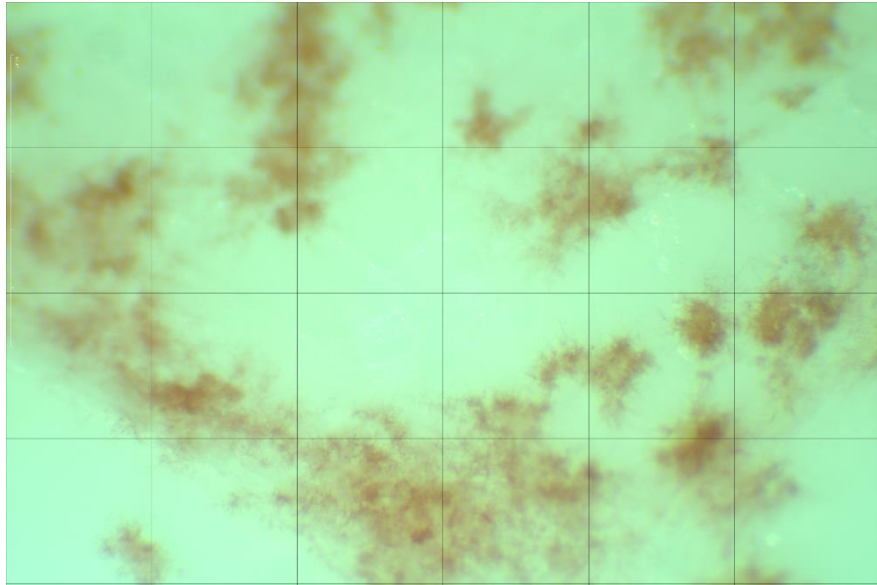
Anexo 24: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 7.



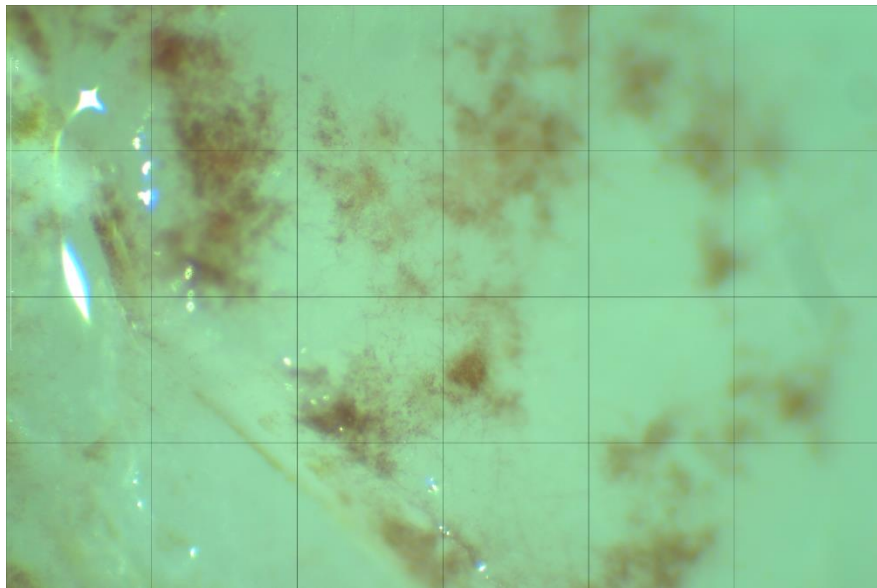
Tratamiento T1



Tratamiento T2

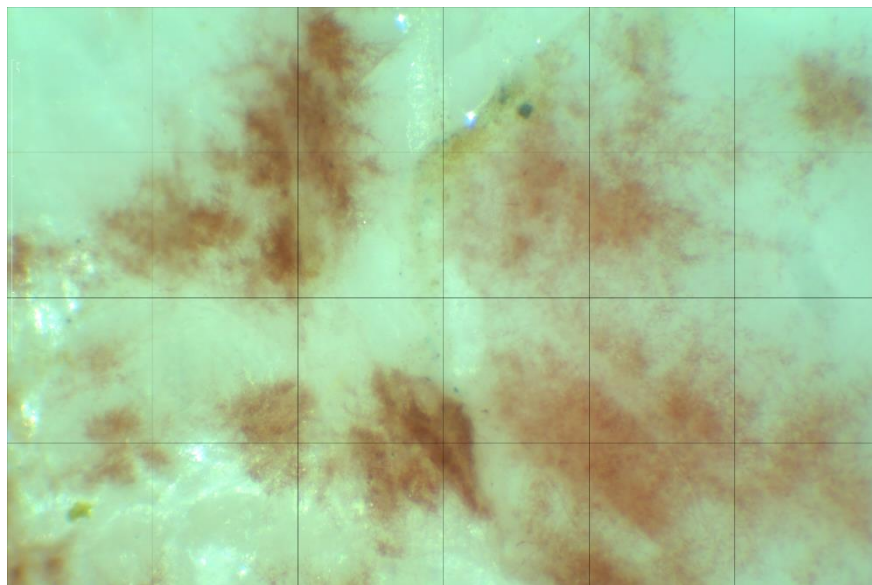


Tratamiento T3

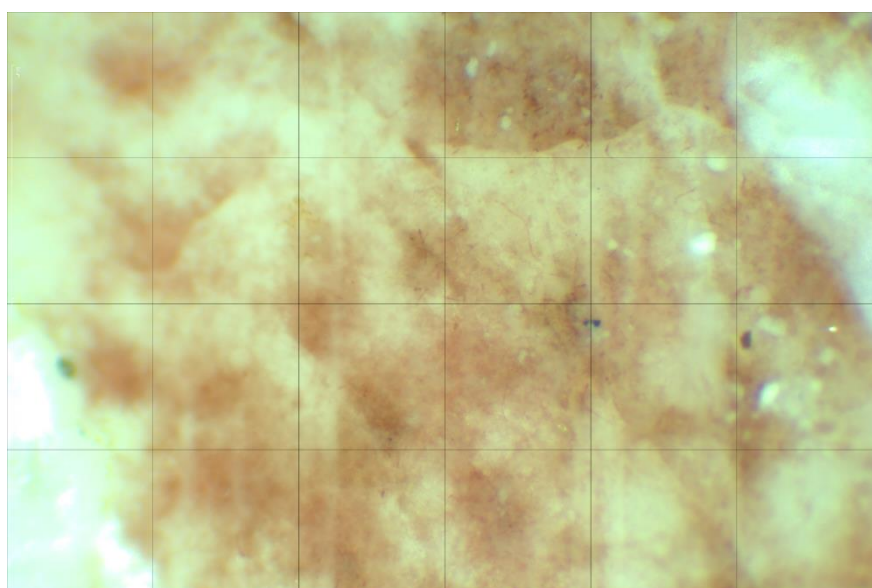


Tratamiento T4

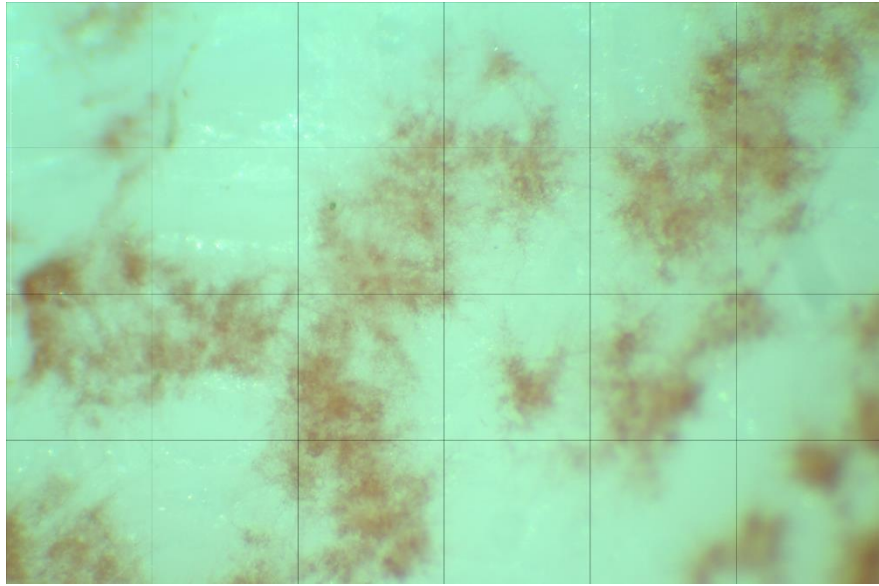
Anexo 25: Crecimiento de las colonias de conchocelis para la semana 8.



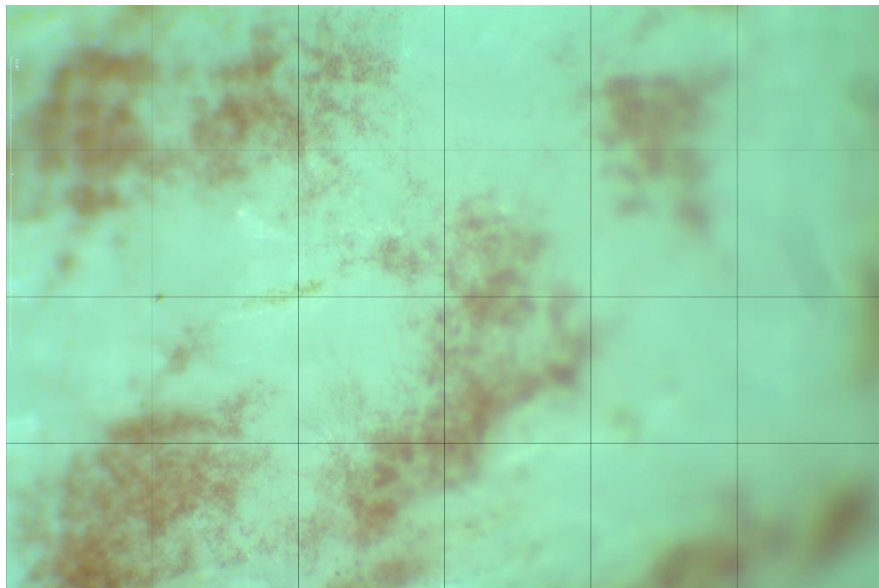
Tratamiento T1



Tratamiento T2



Tratamiento T3



Tratamiento T4