

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE DIFERENTES
FERTILIZANTES COMERCIALES EN EL CULTIVO
ASENTADO DE *Porphyra* sp.”**

Presentada por:

GUIDO GERONIMO MALDONADO

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

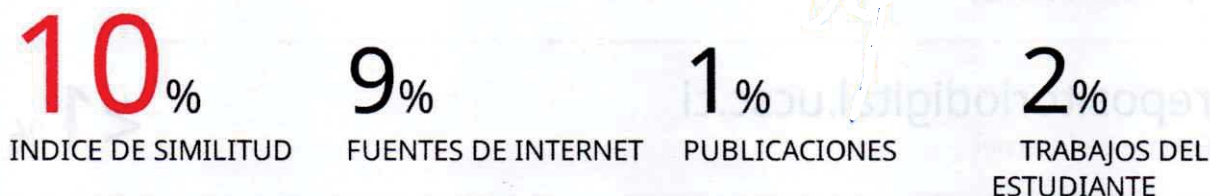
Lima – Perú

2024

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

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE DIFERENTES FERTILIZANTES COMERCIALES EN EL CULTIVO ASENTADO DE *Porphyra* sp.

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	revistas.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1%
2	www.fertihouse.es Fuente de Internet	1%
3	web10.unl.edu.ar:8080 Fuente de Internet	1%
4	archive.org Fuente de Internet	1%
5	www.scilit.net Fuente de Internet	1%
6	open.uct.ac.za Fuente de Internet	<1%
7	acceda.ulpgc.es Fuente de Internet	<1%
8	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	<1%

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE DIFERENTES
FERTILIZANTES COMERCIALES EN EL CULTIVO
ASENTADO DE *Porphyra* sp.”**

Presentada por:

GUIDO GERONIMO MALDONADO

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Ph.D. Viviana Patricia Castro Cepero
PRESIDENTE

Biol. Milagros del Rosario Chang La Rosa
MIEMBRO

Dra. Patricia Liliana Gil Kodaka
MIEMBRO

Ph.D. Alfredo Salomón Rodríguez Delfín
ASESOR

Mg.Sc. Samuel Arbaiza Quispe
CO-ASESOR

DEDICATORIA

Dedico la Tesis a mis padres, Edita y Fermín.

“Ellos me enseñaron que para lograr los objetivos planteados es necesario dedicarse con esfuerzo, sacrificio, constancia y fuerza de voluntad”.

AGRADECIMIENTOS

- Dios tu amor y tus fuerzas no tienen fin, me permites avanzar con la sonrisa ante todo mis obstáculos y mis logros que son resultados de tu ayuda incondicional, y cuando caigo y me pones a prueba, aprendo de mis errores y me doy cuenta de lo bello que es la vida. Te debo a ti la vida y a los logros que han de por venir.
- Este trabajo de Tesis ha sido una gran bendición en todo sentido y les agradezco a mis padres Fermín Gerónimo Maldonado y Edita Maldonado Allecaco quienes con su aliento y consejos me enseñaron a no desistir ante algo que se ha iniciado. Gracias a ellos que con valores y principios realizo mis trabajos y proyectos. Así mismo, mis hermanos Diana y Fermín, que han visto año tras año mi avance como profesional.
- Agradezco especialmente a las instituciones que me brindaron la posibilidad de continuar mi formación profesional a través del Contrato N° 137- INNÓVATE PERÚ-IAPIP-2017 en la Universidad Nacional Agraria de la Molina (UNALM).
- Mi agradecimiento también va para mis grandes amigos Percy Munayco y Ricardo Reynaga, que han estado desde el inicio de esta aventura del mundo marino, sin ellos no hubiese culminado este trabajo y al Mg. Sc. Orlando que si no fuera por su gran apoyo con asesorías y el modelamiento avanzando este proyecto no hubiese existido.
- Agradezco a Giovana Angela Chunching Chaname, estudiante de Biología que me apoyo en diferentes etapas de la tesis.
- Agradezco al Dr. Victor Meza (q.e.p.d) por apoyarme con mi proyecto como Co-asesor y como coordinador del proyecto Contrato N° 137- INNÓVATE PERÚ-IAPIP-2017.
- Agradezco al apoyo incondicional del Ph. D. Rodríguez mi asesor de todo el proyecto de tesis. Sin sus consejos y apoyo en la materia de nutrición vegetal no podría concretar dicho trabajo.
- Agradezco a la Dra. Patricia Gil-Kodaka por el apoyo, consejos y compromiso de docente que impulsa a la mejora de sus alumnos.
- Gracias a Ing. Luz Mayra Valverde Miranda quien me impulsó y aconsejó a continuar mi tesis, confianza en Dios para obtener fuerzas y nunca rendirme antes los obstáculos que la vida nos propone.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	3
2.1. Familia Bangiaceae.....	3
2.1.1. El género <i>porphyra</i>	3
2.1.2. El género <i>Pyropia</i>	4
2.1.3. Identificación molecular de <i>Porphyra/Pyropia</i> sp	5
2.2. Biología de la Especie.....	5
2.3. Irradiación en el Mar.....	5
2.4. Océano	7
2.5. Movimiento del agua	10
2.6. Temperatura.....	10
2.7. Absorción de Nitrato (NO ₃).....	11
2.8. Absorción de Fosfato (PO ₄).....	13
2.9. Sales de Grado Analítico.....	15
2.10. Hábitat	16
2.11. Fase Conchocelis	18
2.11.1. Cultivo de <i>Porphyra</i>	18
2.11.2. Crecimiento de la fase Conchocelis	19
2.11.3. Fotografíasíntesis y respiración de Conchocelis	20
III. METODOLOGÍA.....	21
3.1. Colecta de las muestras	21
3.1.1. Limpieza del material de trabajo	22
3.1.2. Limpieza de los Bivalvos.....	22
3.1.3. Medición del área Convexa del Bivalvo.....	22
3.2. Esterilización del agua de mar	23
3.2.1. Filtrado del agua de mar	23

3.2.2. Cloración de agua de mar	23
3.2.3. Esterilización mediante autoclave	24
3.2.4. Cámara de Germinación para Conchocelis.....	24
3.3. Liberación de Cigostopora	25
3.3.1. Transferencia de talos reproductivos	25
3.2.2. Aireación constante	25
3.2.3. Conteo de Cigotospora	25
3.4. Inoculación de Cigotosporas y Asentamiento	25
3.5. Método de análisis	26
3.5.1. Medición de Nitrato (NO ₃ -)	26
3.5.2. Medición de Fosfato (PO ₄).....	26
3.5.3. Crecimiento de biomasa de conchocelis.....	27
3.6. Diseño Experimental.....	27
3.7. Formulación de la hipótesis.....	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1. Áreas superficiales de las conchas de abanico	30
4.2. Determinación de la calidad de agua de mar	31
4.3. Parámetros físicos para el Crecimiento de Conchocelis	32
4.4. Absorción de Nitrato <i>mM</i>	33
4.5. Absorción de Fosfato <i>mM</i>	37
4.6. Área (en mm ²) de Crecimiento de <i>Porphyra</i> sp.	39
V. CONCLUSIONES	44
VI. RECOMENDACIONES	45
VII. BIBLIOGRAFÍA	46
VIII. ANEXOS.....	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Parámetros Físico-Químico in situ, Bahía de Paracas-Pisco, invierno 2008.....	8
Tabla 2: Condiciones de cultivo para la etapa de germinación y crecimiento de la fase conchocelis de <i>Porphyra sp.</i>	20
Tabla 3: Condiciones de cultivo para las etapas de asentamiento y crecimiento de la fase conchocelis de <i>Porphyra sp.</i>	24
Tabla 4: Diseño experimental del crecimiento <i>conchocelis</i>	28
Tabla 5: Área superficial convexa de las valvas con el software FIJI-ImageJ.....	30
Tabla 6: Resultados del análisis Físico Químico de agua de mar filtrada proveniente de Paracas, Pisco.....	32
Tabla 7: Condiciones físicas para el desarrollo inicial de la fase conchocelis, <i>Porphyra sp.</i>	33
Tabla 8: Resultados del asentamiento y la germinación en la valva	40
Tabla 9: Crecimiento Específico de los filamentos de <i>Porphyra</i> en su fase conchocelis, crecimiento exponencial.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama que muestra los diferentes destinos de la radiación solar que llega a la tierra.	7
Figura 2. Ubicación E2 como estación de muestreo de calidad de agua	9
Figura 3. Fotografía de movimiento de olas inter-mareales del lugar de colecta in situ en playa “Santa Elena” cerca de la reserva de Paracas, Pisco, Ica-Perú.	10
Figura 4. Características principales de la absorción y asimilación de nitrógeno en una célula de alga eucariota.	12
Figura 5. Principales características de la captación y asimilación de fósforo en una célula de microalgas. DOP, fosfato orgánico disuelto; Pi, fosfato inorgánico.....	15
Figura 6. La historia de vida de <i>Po. umbilicalis</i> que muestra tanto la fase sexual reproductiva con un conchosporangium (a) y la fase reproductiva asexual a través de esporas neutras (b).	17
Figura 7. Ciclo de vida de “nori”.....	18
Figura 8. Temperatura superficial promedio del agua de mar al año en la localidad de Paracas, Pisco.....	21
Figura 9. <i>Porphyra</i> sp. recolectada de las rocas de la playa Santa Elena, Paracas-Pisco, Ica-Perú.....	29
Figura 10. Absorción de Nitrato en <i>mM</i> de Bayfolan® vs tiempo	34
Figura 11. Absorción de Nitrato <i>mM</i> vs tiempo en AyB.....	36
Figura 12. Absorción de Fosfato <i>mM</i> vs Tiempo en Bayfolan®	37
Figura 13. Absorción de Fosfato <i>mM</i> y Tiempo en AyB	38

Figura 14. Crecimiento de conchocelis en mm ² en la superficie de la concha con la solución de Bayfolan®.....	41
Figura 15. Crecimiento de conchocelis en mm ² en la superficie de la concha con la solución de AyB.	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Niveles de Nitrato mili Molar (NO ₃) de Conchocelis	54
Anexo 2. Prueba Estadística de Nitrato mili Molar (NO ₃) de Conchocelis	55
Anexo 3. Prueba Estadística de Fosfato mili Molar (PO ₄) de Conchocelis	59
Anexo 4. Prueba Estadística de Fosfato micro Molar (PO ₄) por Conchocelis	60
Anexo 5. Prueba Estadística del Crecimiento en mm ² de Conchocelis	65
Anexo 6. Prueba Estadística de Crecimiento (mm ²) por Conchocelis	66
Anexo 7. Prueba Estadística de pH de Conchocelis, <i>Porphyra</i> sp.	70
Anexo 8. Prueba Estadística de pH.....	72
Anexo 9. Evolución del pH	77
Anexo 10. Correlación de Pearson	78
Anexo 11. Preparación de la concentración iniciales de Fertilizantes Comerciales.....	79
Anexo 12. Ficha Técnica del Fertilizante líquido, Bayfolan®	80
Anexo 13. Registro Fotografiográfico	81
Anexo 14. Resultados del análisis Físico – Químico de agua de mar, Pisco, Ica-Perú.....	102

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. La playa Santa Elena ubicado en la Bahía de Paracas.	81
Fotografía 2. <i>Porphyra</i> sp. en las zonas intermareales de la playa Santa Elena.	81
Fotografía 3. Medición a escala de <i>Porphyra</i> sp.	82
Fotografía 4. Sistema de filtrado y esterilización UV. a). Sistema de filtros de agua de mar (10, 5 y 1 μ m). b). Lámpara UV.	82
Fotografía 5. Muestra de vasos precipitados autoclavados de 500ml con una concha de <i>Argopecten purpuratus</i>	83
Fotografía 6. Kit de medición de cloro disuelto.	83
Fotografía 7. A) Manejo de áreas reproductivas de cochayuyo (<i>Porphyra</i> sp.) en bandejas de plástico y papel para quitar la humedad. B) Disección de áreas reproductivas (bordes marrones rojizos) con un bisturí. C) Estrés de áreas reproductivas por variación de salinidad (desecamiento), de luz (oscuridad) y temperatura para inducir la liberación de cigotosporas.	84
Fotografía 8. Áreas reproductivas en matraces en cámara de flujo laminar.	84
Fotografía 9. Liberación de Cigotosporas de las áreas reproductiva en matraces de 1 litro con una aireación promedio de 7.2 ml/L.	85
Fotografía 10. Solución de cigotosporas con mayores células por litro después de las 12 horas de inducción a la esporulación.	85
Fotografía 11. Determinación de la densidad de cigotosporas de cochayuyo (<i>Porphyra</i> sp.).	86
Fotografía 12. Sistemas de asentamiento de cultivo de la fase “conhocelis” de <i>Porphyra</i> sp. en cámaras de germinación a condiciones controladas.	86
Fotografía 13. Cigotospora asentadas en la superficie convexa de conchas de abanico (<i>Argopecten purpuratus</i>) a 10X.	87
Fotografía 14. Fotografiácolorímetro YSI 9500 de Nitrato y Fosfato	87

Fotografía 15. Monitoreo de los parámetros de Salinidad, Temperatura, Conductividad, TDS y pH.	87
Fotografía 16. Crecimiento de Conchocelis asentado de <i>Porphyra</i> sp. tomado con la el Microscopio trilocular iScope EuroMex a 1000X y 400X.	88
Fotografía 17. Observación del crecimiento de la fase Conchocelis de <i>Porphyra</i> sp. en Estereoscopio a 40X con fertilizantes al 25%	93
Fotografía 18. Observación del Diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de <i>Porphyra</i> sp. en Estereoscopio a 40X con fertilizantes al 50%	93
Fotografía 19. Observación del Diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de <i>Porphyra</i> sp. en Estereoscopio a 40X con fertilizantes al 100%	94
Fotografía 20. Observación del Diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de <i>Porphyra</i> sp. en Estereoscopio a 400X con fertilizantes al 0% (prueba control)	95
Fotografía 21. Observación del diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de <i>Porphyra</i> sp. con microscopio a 400X con fertilizantes al 25%	96
Fotografía 22. Observación del diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de <i>Porphyra</i> sp. con fertilizantes al 50%	98
Fotografía 23. Observación del diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de <i>Porphyra</i> sp. con fertilizantes al 100%	100

RESUMEN

Las macroalgas rojas (Rhodophyta) son de gran relevancia económica en el mundo, siendo principalmente cultivada para la preparación de las hojas nori, tan conocidos en la gastronomía japonesa. El nori es reconocido por sus beneficios a la salud, debido a su alto contenido de vitaminas, minerales y proteínas. Por esa razón, la domesticación de ese grupo de macroalgas podría ser gran interés comercial para empresas de acuicultura en Perú estimando ganancias de billones de dólares al año. El presente estudio y el conocimiento del comportamiento de estos microorganismos llamados conchocelis, ha sido esencial para el proceso de domesticación de las especies, que ha empezado desde el siglo XVII en países asiáticos y, a la fecha, se considera como una de las industrias de mayor importancia. *Porphyra* sp. es un género de alga roja que se ha reportado en el sur de Perú, en las regiones de Arequipa, Pisco e Ica y, por el norte, en la región Piura. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la concentración óptima de dos fuentes comerciales de nutrientes esenciales: Bayfolan® y solución hidropónica La Molina A y B para el crecimiento y desarrollo de la fase conchocelis de *Porphyra* sp. La cual aspira a contribuir para el aprovechamiento de especies de *Porphyra*, incentivando el desarrollo de la región del sur, playa Santa Elena de Paracas-Perú, ya sea mediante el abastecimiento de la demanda local, nacional y/o mediante la incursión en el mercado internacional. Por otro lado, este trabajo complementará los recientes estudios genéticos en base a marcadores moleculares de estas macroalgas rojas; además, de la biología reproductiva y su relación con los factores ambientales especies de *Porphyra*. Los resultados fueron obtenidos en su primera etapa (microscópico) conocido como crecimiento endolítica filamentosa de conchocelis en asentamiento sustrato calcáreos. Se analizó su crecimiento *in vitro* en cámaras de germinación programadas con una temperatura de 15.03 °C, salinidad 36.05 PSU, Conductividad eléctrica 55.95 mS/cm, irradiancia 15.93 micro moles.m⁻².s⁻¹ y fertilizantes Bayfolan y Solución hidropónica Ay B la Molina que presentan Nitrato (NO₃⁻) y Fosfato (PO₄⁻³). Los datos en cada diseño experimental se aplicaron ANOVA y posteriormente una prueba de Tukey, cumpliendo los supuestos de Normalidad y Homogeneidad de Varianza señalando las condiciones de mayor significancia para el crecimiento de conchocelis. El crecimiento máximo se dio en la solución hidropónica A y B con el tratamiento 25 por ciento con un 4.15 mm² a diferencia de Bayfolan a 1.54 mm²; sin embargo, con diferente cobertura, 71.56% y 54.93%.

Palabras Clave: *Porphyra* sp., Bayfolan, Solución Hidropónico La Molina A y B, Conchocelis filamentosa, Crecimiento endolítica.

ABSTRACT

The red macroalgae (Rhodophyta) are of great economic relevance in the world, being mainly cultivated for the preparation of nori leaves, so well-known in Japanese gastronomy. Nori is recognized for its health benefits, due to its high content of vitamins, minerals, and proteins. For this reason, the domestication of this group of macroalgae could be of great commercial interest for aquaculture companies in Peru, estimating profits of billions of dollars per year. The present study and the knowledge of the behavior of these microorganisms called “conchocelis”, has been essential for the domestication process of the species, which has started since the 17th century in Asian countries and, to date, is considered one of the most important industries. *Porphyra* sp. is a genus of red algae that has been reported in southern Peru, in the regions of Arequipa, Pisco and Ica and, to the north, in the Piura region. The objective of this work was to determine the optimum concentration of two commercial sources of essential nutrients: “Bayfolan®” and hydroponic solution “La Molina” A and B for the growth and development of the “conchocelis” phase of *Porphyra* sp. The aim is to contribute to the utilization of *Porphyra* species, encouraging the development of the southern region, Santa Elena de Paracas-Peru beach, either by supplying the local and national demand and/or by entering the international market. On the other hand, this work will complement recent genetic studies based on molecular markers of these red macroalgae; in addition, the reproductive biology, and its relationship with environmental factors *Porphyra* species. The results were obtained in its first stage (microscopic) known as filamentous endolithic growth of “conchocelis” in calcareous substrate settlement. There in vitro growth was analyzed in germination chambers programmed with a temperature of 15.03 °C, salinity 36.05 PSU, electrical conductivity 55.95 mS/cm, irradiance 15.93 micro moles. m⁻².s⁻¹ and fertilizers “Bayfolan®” and Ay B la Molina hydroponic solution containing Nitrate (NO₃⁻) and Phosphate (PO₄⁻³). The data in each experimental design were applied ANOVA and later a Tukey test, fulfilling the assumptions of Normality and Homogeneity of Variance, indicating the conditions of greater significance for the growth of “conchocelis”. The maximum growth occurred in hydroponic solution A and B with the 25% treatment at 4.15 mm² as opposed to “Bayfolan®” at 1.54 mm². However, with different coverage, 71.56% and 54.93%.

Keywords: *Porphyra* sp., Bayfolan, Hydroponic Solution La Molina A and B, Conchocelis filamentous, Endolithic growth.

I. INTRODUCCIÓN

Las macroalgas pertenecen a un grupo variado de plantas, provista de diferentes pigmentos Fotosintéticos (Acleto y Zuñiga 1998); las cuales habitan principalmente en ambientes marinos viviendo adheridas a sustratos rocosos a distintas profundidades (Franco *et al.*, 1995). Se caracterizan por su gran riqueza en proteínas, mucilagos, oligoelementos y vitaminas, por lo que existe un elevado aprovechamiento de las algas en la alimentación humana (Aragón *et al.*, 2012).

A nivel mundial las tres algas marinas de mayor producción acuícola para el consumo humano directo son *Laminaria japónica* (kombu), *Undaria pinnatifida* (wakame) y *Porphyra* sp. (nori); siendo el género *Porphyra* el que presenta la mayor producción en la maricultura japonesa y un mayor valor económico a comparación del kombu y el wakame (McHugh, 2002; FAO, 2016). El comercio de estas algas marinas desempeña un papel importante en el sector de la pesca y la acuicultura como creador de empleo, generador de ingresos, proveedor de alimentos y contribuyente al desarrollo económico y la seguridad alimentaria (FAO, 2016).

El cultivo y procesamiento de *Porphyra* sp. es una de las industrias acuícolas más importantes de las costas asiáticas, principalmente en Japón, China y Corea; considerada como el alga más valiosa de la maricultura mundial. Debido a su gran importancia económica y beneficios para la salud, tales como: disminución de la presión arterial y glucemia, efectos antiinflamatorios, inmunomoduladores, neuroprotectores, etc. Todas estas propiedades se han atribuido a distintos compuestos bioactivos: polisacáridos sulfatados, polifenoles, carotenoides, aminoácidos, proteínas/péptidos y lípidos (Mohamed y col., 2012). El cultivo de *Porphyra* sp. se ha extendido a países de Europa, América, África y Oceanía (Sahoo *et al.*, 2002; Jiixin Chen y Pu Xu, 2005; Sahoo y Yarish, 2005).

Por otro lado, el uso de *Porphyra* sp. en los pueblos del Este de Asia como Japón, China y Corea ya se conocía su consumo y comercialización; sin embargo, en países ribereños del Océano Pacífico existen reportes ancestrales del consumo que se daba en Chile y Perú. En la actualidad es un alimento común y de amplio consumo diario de toda la zona sur y zonas

alto andinas del país; además, presenta un potencial económico y sobre todo rentabilidad en la industria (H. Romo *et al.*, 2005). Sin embargo, a pesar de la importancia como suplemento en nuestra dieta y mejor aún en su importancia en el mercado internacional, muy poco se conoce en nuestro país acerca del cultivo de *Porphyra* sp.

En el Perú las algas marinas son exportadas y utilizadas como materia prima en la industria de alginatos, carragenanos y agar; y en menor grado para consumo humano directo; mientras que a nivel nacional son utilizadas en la elaboración de productos de aseo personal y para el consumo humano directo (Vivanco *et al.*, 2011; Aragón *et al.*, 2012). Además, se utilizan en forma de polvo seco como aditivo para la alimentación animal y como fertilizantes agrícolas (FAO, 2016).

Por esa razón, en la presente investigación, se desarrolló el crecimiento de las macroalgas *Porphyra* sp. en su etapa conchocelis y en un futuro llevar a la maricultura; además, evaluó el efecto con diferentes nutrientes (fertilizantes) en la etapa microscópica llamada conchocelis, resaltando que no usó las sales de grado analítico en laboratorio como Von Stock o Provasoli ya que son de elevado precio, imposibilitando así la escalabilidad y producción. Sin embargo, aún en nuestro país no existen investigaciones ligadas al desarrollo del cultivo de esta especie, ni mucho menos en el uso de nutrientes comerciales para la producción y cultivo de esta especie en la fase microscópica de conchocelis, *Porphyra* sp.

Por tanto, determinar el efecto de los nutrientes comerciales óptimos como fuente de nitrógeno y fósforo (Nitrato y Fosfato de Bayfolan[®] y de solución hidropónica La Molina; soluciones A y B), brindará información importante que permita desarrollar el cultivo de esta especie en nuestro país. Por esa razón, el proyecto de investigación tiene como finalidad la determinación de la concentración óptima en diferentes nutrientes comerciales y evaluar su efecto en el crecimiento de la fase conchocelis de *Porphyra* sp. en condiciones controladas de laboratorio.

La presente investigación tuvo como objetivo general determinar la concentración óptima de dos fuentes comerciales de nutrientes esenciales: Bayfolan[®] y la solución hidropónica La Molina A y B para el crecimiento y desarrollo de la fase conchocelis de *Porphyra* sp., y como objetivos específicos (1) Evaluar las concentraciones de nutrientes comerciales (Nitrato y Fosfato) y su correlación con el crecimiento de la fase conchocelis de *Porphyra* sp. y (2) Determinar el efecto del nutriente comercial Bayfolan[®] y la solución hidropónica La Molina A y B en el crecimiento y desarrollo de la fase Conchocelis de *Porphyra* sp.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Familia Bangiaceae

Dentro del orden de Bangiales, la única familia claramente definida es Bangiaceae, según Nelson *et al.* (1998) y Yoon *et al.* (2006). Tradicionalmente, esta familia se dividía en dos géneros basados en la morfología de los gametofitos: *Bangia*, caracterizado por filamentos uniseriados a multiseriados sin ramificaciones, y *Porphyra*, con una morfología foliosa (Sutherland *et al.*, 2011). Agardh (1824) introdujo el género *Porphyra*, estableciendo una distinción definitiva entre estas algas rojas foliosas y las algas verdes. Durante casi dos siglos, se utilizó el término *Porphyra* sensu lato para agrupar a las algas foliosas del orden Bangiales (Yang *et al.*, 2017). Sin embargo, la clasificación de estos especímenes resultó complicada debido a la considerable variabilidad morfológica y a la diversidad críptica dentro de este género (Stiller y Waaland, 1993; Brodie *et al.*, 2008).

El género *Porphyra* sensu stricto constituye el segundo género más diverso en la familia Bangiaceae, con 57 especies taxonómicamente aceptadas que se encuentran distribuidas en casi todos los océanos del mundo (Márquez, 2019). En contraste, el género *Porphyra* sp ostenta la mayor diversidad dentro del orden Bangiales, con 68 especies taxonómicamente reconocidas y una presencia global en todos los océanos (Márquez, 2019).

2.1.1. El género *porphyra*

En *Porphyra* sensu stricto, el talo gametofítico adopta una forma ovada a lanceolada, ocasionalmente falcada, siendo monostromático, según Guiry y Guiry (2018). Los márgenes pueden ser enteros, planos, dentados, ondulados o arrugados, y la célula vegetativa presenta un único plastidio en forma de estrella. El color del talo de *Porphyra* sp. varía entre verde oliva, marrón rojizo o marrón. Tanto individuos monoicos como dioicos muestran el soro reproductivo, que puede estar en el borde del folio o disperso, a veces limitado a áreas específicas del mismo. El soro masculino consta de grupos de espermatangios, mientras que el femenino contiene gametos, a menudo con tricomas conspicuos. Tras la fertilización, cada gameto femenino forma paquetes de 8 a 16 cigotosporangios (Sutherland *et al.*, 2011; Guiry y Guiry, 2018).

Porphyra sp. es un género de algas rojas que tiene cerca de 70 especies que viven en la zona intermareal, comúnmente entre el intermareal superior y la zona de rompimiento de las olas según (Acuña y Espinoza 2014). Son un género cosmopolita que se distribuye desde latitudes ecuatoriales hasta regiones polares, por todos los continentes desde aguas tropicales a templadas (Romo *et al.* 2005 y Acuña y Espinoza 2014). Sin embargo, en la actualidad las especies incluidas en el género *Porphyra sensu stricto* están extensamente distribuidas en la mayoría de las zonas templadas de los océanos del mundo, sin embargo, un gran grupo de estas especies todavía no ha sido descrito, especialmente las pertenecientes al hemisferio sur que incluyen Sudamérica, Sudáfrica, Australia, Nueva Zelanda y las islas sub antárticas (Sutherland *et al.*, 2011). Así mismo, debido a la formación de nuevos géneros dentro de Bangiales, el número de especies en *Porphyra* disminuyó, contando hasta la fecha con 57 especies reconocidas taxonómicamente, siendo la especie tipo *Porphyra purpurea* (Roth) C. Agardh colectada en Eckwarden, Baja Sajonia, Alemania (Guiry y Guiry, 2018).

A continuación se muestra la clasificación científica del género *Porphyra* (M-D. Guiry 2021):

Dominio	: Eucaryota
Reino	: Plantae
Phylum	: Rhodophyta
Clase	: Bangiophyceae
Orden	: Bangiales
Familia	: Bangiaceae
Género	: <i>Porphyra</i>

2.1.2. El género *Pyropia*

Pyropia se distinguió de *Porphyra* debido a que en la zona distal de la fronda poseía células en forma de apéndices pequeños. Sin embargo, por los constantes intentos de encontrar esta característica en el género, la especie *Pyropia californica* pasó a ser sinónimo de *Porphyra nereocystis* (Guiry y Guiry, 2018) y el género *Pyropia* quedó en desuso hasta que Sutherland *et al.* (2011) lo volvieron a usar. En la actualidad, para aceptar una especie dentro de *Pyropia* ya no depende de la descripción original o de alguna característica morfológica, sino más bien, de que las secuencias de ADN de los especímenes se asocian al clado que incluye la muestra tipo de *Pyropia* (Sutherland *et al.*, 2011)

Dominio	: Eucaryota
Reino	: Plantae
Phylum	: Rhodophyta
Clase	: Bangiophyceae
Orden	: Bangiales
Familia	: Bangiaceae
Género	: Pyropia

2.1.3. Identificación molecular de *Porphyra/Pyropia* sp

Las identificaciones de las especies recientemente descritas son correctas, donde se incluyeron datos de secuencias moleculares en la delimitación de especies originales sea el caso de *Porphyra columbina* Montagne en Lagunilla-Ica según (Márquez, 2019). Por ello, las colectas serán llevadas directo (con la mano se arrancará el talo de la peña desde el disco de fijación). Inmediatamente, estas muestras serán almacenadas en bolsas ZicPloc y transportadas hacia el laboratorio de Biología Aplicada - UNALM dentro de un Cooler conservadora de temperatura con bloques de Chiller fríos para mantener temperaturas de 5 a 7°C y poder preservar las muestras.

2.2. Biología de la Especie

Las algas rojas del género *Porphyra* presentan un ciclo de vida bifásico heteromórfico con una alternancia de generaciones entre un gametofito folioso haploide y un esporofito diploide filamentosos llamados “conchocelis” (Sahoo *et al.* 2002 y Redmond *et al.* 2014).

Existen varias modalidades de reproducción en el género *Porphyra*, tanto sexual como asexual; en la reproducción sexual, el gametofito o talo adulto presentan en los márgenes de la hoja células vegetativas maduras: carpogonias y espermatogonias que pueden estar presentes en un solo talo o en talos diferentes, siendo monoico o dioico respectivamente (Thomas 2002 y Sahoo *et al.* 2002). Las espermatogonias forman paquetes de 16, 32, 64 o 128 espermacios que están rodeados por una cubierta gelatinosa abundante; cada grupo de espermacios poco coloreados se forman a partir de una serie de divisiones mitóticas de una simple célula vegetativa. En cambio, las carpogonias resultan de la metamorfosis de algunas células marginales (carposporangio). Adoptan una forma ovoide con una pequeña protuberancia en uno de sus extremos orientada hacia la superficie externa del talo; esta

protuberancia se considera como tricogino rudimentario o prototricogino (Acleto y Zuñiga 1998). Cuando las olas cubren el talo, los espermacios maduros son llevados por el agua fijándose algunos en la región carpogonial del talo uniéndose al carpogonio por medio del prototricogino, o por medio de un tubo que se forma del carpogonio al espermacio. En cualquiera de los casos, los núcleos se fusionan y el cigoto resultante se divide repetidas veces dando lugar a 2, 4, 8, 16, o 32 divisiones respectivas (Acleto y Zuñiga 1998). El nuevo cigoto diploide se dividirá para producir carposporangios, estos a su vez formaran esporas conocidas como carposporas o zigotosporas. Estas son liberadas del talo donde se desplazarán en forma de ameboide hasta fijarse al sustrato calcáreo de moluscos donde germinaran a estructuras filamentosas que cavaran dentro del carbonato de calcio formando la fase conchocelis (Acleto y Zuñiga 1998 y Thomas 2002). Los conchocelis pueden sobrevivir en condiciones ambientales adversas formando estructuras especializadas llamados conchosporangios, donde se dará lugar a la meiosis que producirá esporas haploides idénticas llamadas conchosporas que fijadas a un sustrato (normalmente rocas u otras algas) crecerán y formarán un talo joven haploide, completando el ciclo de vida (Thomas 2002; Sahoo *et al.* 2002 y Redmond *et al.* 2014).

La reproducción asexual en *Porphyra* sp. se realiza por células vegetativas del talo que expulsan archeosporas o monosporas que germinan directamente para formar un nuevo talo (Thomas 2002 y Sahoo *et al.* 2002). Por otra parte, la fase conchocelis también puede producir esporangios uniloculares que contengan archeosporas que originen nuevos conchocelis (Acleto y Zuñiga 1998 y Redmond *et al.* 2014). Además, el conchocelis puede reproducirse asexualmente por fragmentación para formar la misma fase formando ramilletes esféricos, que se puede aplicar para mantener cepas *in vitro* para estudios fisiológicos (Acleto y Zuñiga 1998 y Romo *et al.* 2005).

2.3. Irradiación en el Mar

El uso de la luz del sol como una expresión funcional o Radiación Fotografíasintéticamente Activa (RFA) es dependiente del ambiente en que esta luz llega. Las plantas se han adaptado a atrapar los “cuantos” de luz en diferentes rangos del espectro visible. Aun así, es posible que las plantas no logren atrapar toda la luz disponible. Kimball (2005) observó que sólo un 2,2% de la energía que les llega a las plantas es atrapada en la Fotografíasíntesis. El resto se pierde en reflexión, transpiración y evaporación (97,8%). (ver Figura 2)

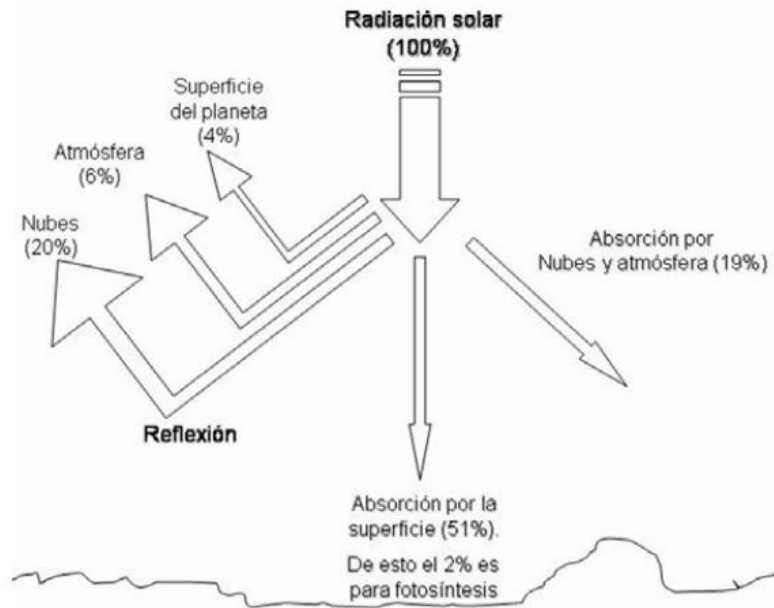


Figura 1. Diagrama que muestra los diferentes destinos de la radiación solar que llega a la tierra.
FUENTE: M. Edding, Fotografíasíntesis, producción de macroalgas)

2.4. Océano

Los océanos representan los cuerpos de agua más importantes del planeta, los estuarios se sitúan entre éstos y los ambientes de aguas continentales. La salinidad (la concentración de sales disueltas en el agua) ejerce una influencia importante en la biota. El agua de mar completamente salina es muy similar, osmóticamente e iónicamente, a los fluidos corporales de la mayoría de los organismos.

El agua puede interferir con la penetración de la luz, particularmente las longitudes de onda Fotográficasíntéticas, así que las formas que hacen Fotografíasíntesis deben permanecer cerca de la superficie para funcionar. La naturaleza del sustrato determina qué puede vivir en él. La temperatura y la circulación del agua son determinantes para la distribución y la supervivencia de su biota.

Por esa razón; es necesario conocer los parámetros del océano que son de gran importancia para cultivos de macroalgas, desde la temperatura, pH, oxígeno disuelto, salinidad y otras. La siguiente tabla presenta los análisis que se han realizado *in situ* en la Bahía de Paracas en el año 2008, tomados de Walsh Perú S.A (Tabla1).

Tabla 1: Parámetros Físico-Químico in situ, Bahía de Paracas-Pisco, invierno 2008

Estaciones de Muestreo	Estrato	Profundidad (m)	Temperatura (°C)	pH	Oxígeno Disuelto(mg/L)	Salinidad ‰	Transparencia (m)	Turbidez (NTU)	Potencial redox (mv)
	Valor Guía		---	6.8 a 8.5**	≥2.50**	---	---	---	---
E - 1	Superficie	0.3	18.0	8.1	5.45	34.84	3.1	---	---
	Medio	3	16.5	8.02	3.44	34.81	---	0.61	---
	Fondo	4	16.1	8.0	1.54	34.82	---	0.59	175
E - 2	Superficie	0.3	19.0	8.02	6.04	34.8	3.5	---	---
	Medio	2.5	17.6	7.98	3.28	34.79	---	0.59	---
	Fondo	4	18.0	7.9	1.20	34.81	---	0.57	164
E - 3	Superficie	0.3	19.0	8.03	6.30	34.82	6.9	---	---
	Medio	4	15.8	8.06	2.90	34.8	---	0.58	---
	Fondo	11	15.1	7.8	0.53	34.79	---	0.59	170
E - 4	Superficie	0.3	19.3	8.01	6.22	34.89	5	---	---
	Medio	4	16.1	7.93	3.67	34.86	---	0.59	---
	Fondo	9.5	15.0	7.9	0.50	34.85	---	0.53	168
E - 5	Superficie	0.3	18.5	7.98	6.90	34.83	5	---	---
	Medio	4	15.7	7.94	3.58	34.8	---	0.58	---
	Fondo	13	15.0	7.9	0.40	34.81	---	0.54	168
E - 6	Superficie	0.3	18.1	8.09	6.98	34.84	4.3	---	---
	Medio	4	14.5	7.73	3.56	34.86	---	0.55	---
	Fondo	17	14.3	7.76	0.33	34.86	---	0.57	173
E - 7	Superficie	0.3	19.0	8.01	7.12	34.84	5.6	---	---
	Medio	4	16.4	7.98	3.94	34.82	---	0.54	---
	Fondo	11	14.5	7.93	0.68	34.83	---	0.53	162
E - 8	Superficie	0.3	19.5	7.98	6.43	34.85	5.7	---	---
	Medio	4	15.5	7.94	3.11	34.84	---	0.57	---
	Fondo	10	15.2	7.89	0.77	34.83	---	0.52	172
E - 9	Superficie	0.3	19.0	7.88	6.23	34.85	5	---	---
	Medio	4	15.4	7.8	3.08	34.83	---	0.58	---
	Fondo	12	15.0	7.76	0.45	34.81	---	0.55	166
E - 10	Superficie	0.3	18.6	7.9	5.80	34.8	5.2	---	---
	Medio	4	15.7	7.88	3.22	34.78	---	0.53	---
	Fondo	13	15.4	7.83	0.30	34.78	---	0.51	170
E - 11	Superficie	0.3	19.4	7.98	6.24	34.98	2.6	---	---
	Medio	4	17.4	7.9	3.89	34.97	---	0.70	---
	Fondo	19	16.0	7.86	0.56	34.96	---	0.98	170

*Ley General de Aguas-Clase VI (D.L. N° 17752 y sus modificatorias D.S. N° 007-83-SA y D.S. N° 003-2003-SA).

**Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua (D.S. 002-2008-MINAM), Categorías 2 y 4.

FUENTE: Walsh Perú S

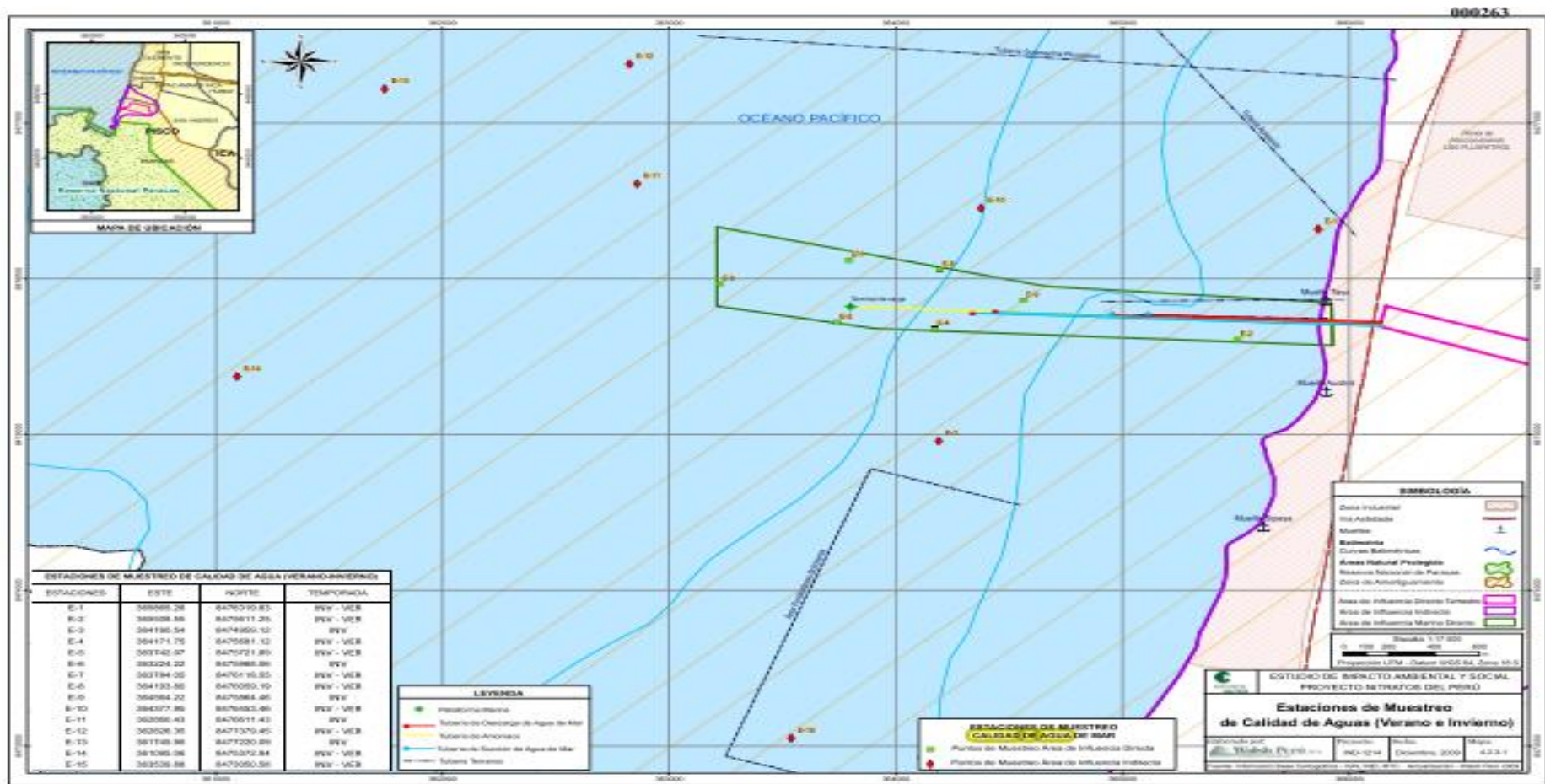


Figura 2. Ubicación E2 como estación de muestreo de calidad de agua
 *Ley General de Aguas-Clase VI (D.L. N° 17752 y sus modificatorias D.S. N° 007-83-SA y D.S. N° 003-2003-SA).
 **Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua (D.S. 002-2008-MINAM), Categorías 2 y 4.
FUENTE: Walsh Perú S. A.

2.5. Movimiento del agua

El movimiento del agua tiene un efecto en el metabolismo de las algas. Littler (1979) observó en *Ulva* y *Colpomenia* que variaron su Fotosíntesis de acuerdo al movimiento del agua. En general, el movimiento del agua facilita el transporte de iones desde y hacia la célula (Hurd 2000).

Las plantas al cambiar de ambiente modificaron su metabolismo y también variaron su morfología. En lugares protegidos las láminas tienden a ser más anchas y delgadas, mientras que en sectores con mayor movimiento de agua las láminas son más gruesas y angostas. Estos cambios morfológicos van acompañados con cambios bioquímicos en la configuración molecular del ácido algínico que se ubica en las paredes celulares.



Figura 3. Fotografía de movimiento de olas inter-mareales del lugar de colecta in situ en playa “Santa Elena” cerca de la reserva de Paracas, Pisco, Ica-Perú.

2.6. Temperatura

La temperatura (calor) controla el índice del metabolismo de la planta que alternadamente determina la cantidad de Fotosíntesis que puede ocurrir. La mayoría de la actividad metabólica biológica en el océano ocurre entre 0 y 27°C. Hay poca actividad sobre o debajo de este rango. Las temperaturas óptimas para la productividad coinciden con 15 a 20°C para la Fotosíntesis.

Durante el período de marea alta en el intermareal, la temperatura es relativamente constante y no hay problemas de desecación. El oxígeno y el dióxido de carbono están disponibles, la luz disponible es reducida, permitiendo la Fotosíntesis. Los nutrientes son abundantes, la locomoción se facilita y la filtración ayuda a la alimentación de numerosos invertebrados. No hay fluctuación osmótica o iónica. Sin embargo, al bajar la marea las fluctuaciones de la temperatura pueden ser considerables y existe el riesgo de la desecación (Rico & Fredriksen 1996) especialmente cuando hay mareas bajas durante el medio día de los meses de verano. El oxígeno puede ser abundante pero no es utilizable. Los niveles de carbono se reducen y aumenta considerablemente la intensidad de la luz produciendo Inhibición de la Fotosíntesis (Gómez *et al.* 2004, Robledo & Freile-Pelegri 2005). Los problemas osmóticos y los iónicos comunes pueden llegar a ser severos, afectando la captación de nutrientes. Por otra parte, las temperaturas invernales afectan el metabolismo y el crecimiento de algunas algas que recurren a moléculas antioxidantes, como superóxido dismutasa, ácido ascórbico, peroxidasa y glutatiónina reductasa, para adaptarse a las bajas temperaturas (Lohrmann *et al.* 2004).

2.7. Absorción de Nitrato (NO₃)

La absorción de nitrato generalmente presenta una cinética de saturación (Harlin y Craigie 1978; DeBoer 1981). Sin embargo, ha habido varios informes de un aumento lineal en la absorción de nitrato con concentraciones crecientes para *Laminaria groenlandica* (Harrison *et al.* 1986), *Chaetomorpha linum* (Lavery & McComb 1991b), *Gracilaria pacifica* (Thomas *et al.* 1987a), y *Chondrus crispus* (Amat y Braud 1990). Las concentraciones en piscinas intracelulares (citoplasmáticas y / o vacuolares) hasta 103 veces mayores que las del agua de mar circundante sugieren fuertemente un gradiente electroquímico desfavorable para el transporte y, por lo tanto, es probable que el transporte sea principalmente un proceso activo. Incluso para las microalgas, se desconoce el mecanismo real de transporte de plasmalema (Syrett 1981, 1988), aunque Tischner *et al.* (1989) han propuesto que el nitrato reductasa podría actuar como una proteína de transporte.

Las fuentes inorgánicas para estas algas son nitrato, nitrito y amonio. El amonio ya está reducido y puede incorporarse directamente a los aminoácidos, pero otros iones primero deben reducirse intracelularmente a amonio. Ocho electrones son necesarios para reducir el nitrato (estado de oxidación +5) a amonio (estado de oxidación -3), y la reducción se produce en dos pasos principales.

El primer paso es la reducción de nitrato a nitrito, catalizado por nitrato reductasa (Davison y Stewart 1984; Thomas y Harrison 1988)



$$\Delta G = - 34.2 \text{ Kcal/mol}; \Delta E = 0.74 \text{ voltios}$$

Esta enzima se ha aislado y purificado de muchas especies de microalgas (Syrett 1981; Tischner *et al.* 1989; Solomonson y Barber 1990), y también está presente en las algas (Weidner y Kiefer 1981; Wheeler y Weidner 1983; Thomas y Harrison 1988; Brinkhuis *et al.* 1989). El nitrato reductasa (NR) es una molécula relativamente grande (2-5 x 10⁵ Da) que tiene tres dominios funcionales, como molibdopterina, citocromo b5 y dinucleótido de adenina flavina (FAD). El donante de electrones generalmente es NADH, pero hay algunas microalgas en las que el donante es NADPH (Lee 1980; Syrett 1981; Solomonson & Barber 1990). Se cree que la enzima ocurre en el citoplasma, aunque hay alguna evidencia de que puede estar asociada con las membranas de cloroplasto (Solomonson y Barber 1990). También puede estar involucrado en el transporte de nitrato por membrana (Tischner *et al.* 1989), aunque otros no están de acuerdo (Warner y Huffaker 1989).

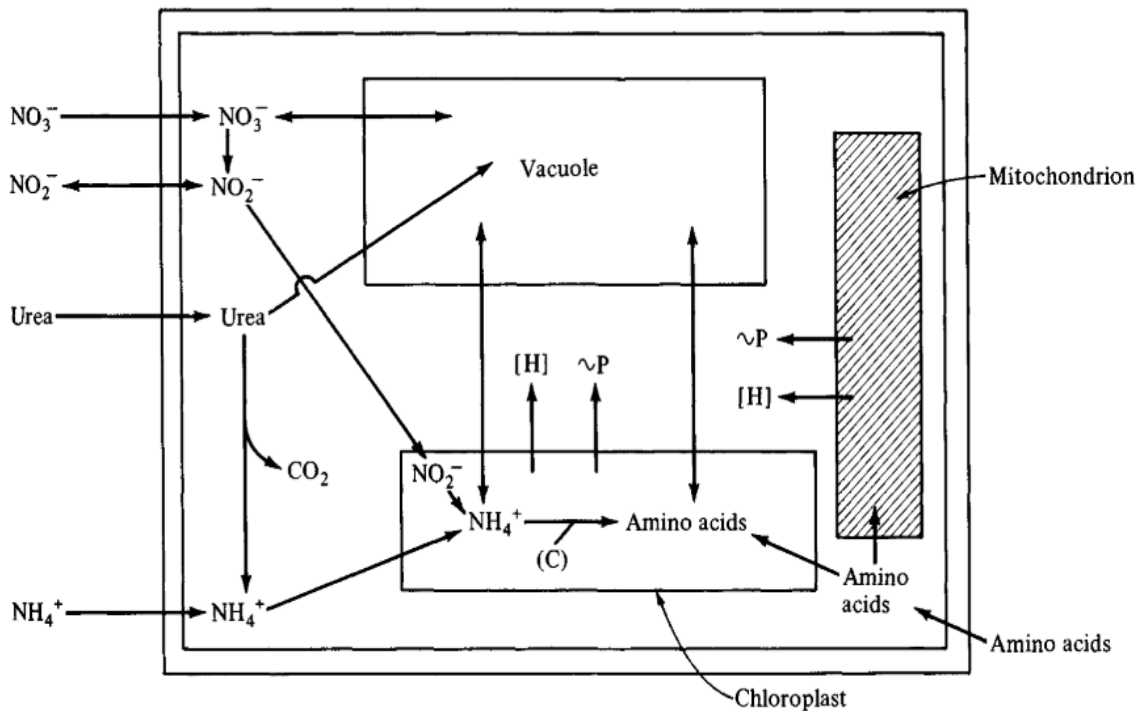


Figura 4. Características principales de la absorción y asimilación de nitrógeno en una célula de alga eucariota. (De Syrett 1981, reproducido con permiso del Ministerio de Suministros y Servicios, Canadá).

Una alternativa a la reducción de nitrato a nitrito en el citoplasma es almacenar nitrato en la vacuola (Fig. 5.8). El análisis de las reservas intracelulares de nitrato indica que se pueden

acumular cantidades sustanciales de nitrato en el citoplasma / vacuola en algunas macroalgas intermareales, especialmente cuando NR está relativamente inactivo (Thomas y Harrison 1985; Hwang *et al.* 1987).

2.8. Absorción de Fosfato (PO₄)

Se han realizado pocos estudios sobre la cinética de absorción de fósforo en las algas marinas, a pesar del hecho de que las concentraciones de fósforo con frecuencia están cerca del límite de detección cuando se agota el nitrógeno del agua de mar. Los estudios preliminares indican que el fósforo es absorbido activamente por *Porphyra* (Epp- ley 1958), y se ha examinado la cinética de saturación en el alga roja *Agardhiella subulata*, produciendo una Vmax de 0.47 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ y una Ks de 0.4 μM (DeBoer 1981).

Las algas adquieren fósforo principalmente como iones ortofosfato (PO₄ ~). Otras fuentes son polifosfatos inorgánicos y compuestos orgánicos de fósforo. Se informa que los fosfatos de azúcar son absorbidos intactos por las bacterias (Rubin *et al.* 1977), pero la mayoría de las algas eucariotas requieren hidrólisis enzimática extracelular para eliminar el azúcar antes de la absorción de fosfato (Nalewajko y Lean 1980). Las polifosfatos también pueden requerir escisión extracelular; la macroalga de agua dulce *Cladophora glomerata* descompone el pirofosfato y el trifosfato (ambos comunes en los detergentes) y toma el fósforo como ortofosfato (Lin 1977). Algunas algas pueden utilizar algunas formas orgánicas de fosfato, como el glicerofosfato, al producir fosfatasa alcalina extracelular (Walther y Fries 1976). La capacidad de las células para escindir enzimáticamente el enlace éster que une el grupo fosfato al resto orgánico es conferida por la actividad de las fosfomonoesterasas (comúnmente llamadas fosfatasas) en la superficie celular. Se han distinguido dos grupos de estas enzimas sobre la base de su pH óptimo, su represibilidad del fosfato y sus ubicaciones celulares (Cembella *et al.* 1984). Las fosfatasas alcalinas son reprimibles por fosfato, son inducibles, tienen un pH alcalino óptimo y generalmente se localizan en la superficie celular o se liberan en el agua de mar circundante. Las fosfatasas ácidas son irreprimibles para el fosfato, son constitutivas, tienen un pH ácido óptimo y generalmente se encuentran de forma intracelular en el citoplasma. Ambos tipos se pueden encontrar simultáneamente en células de algas, con fosfatasas alcalinas que ayudan en la absorción de compuestos orgánicos de fósforo y fosfatasas ácidas que juegan un papel crucial en las reacciones de escisión y transferencia de fosfato en las vías metabólicas dentro de la célula. La característica esencial de las fosfatasas que les permite participar

eficientemente en el metabolismo celular es su capacidad para ser inducidas y reprimidas alternativamente, dependiendo de las necesidades metabólicas. Cuando las concentraciones externas de fosfato inorgánico son altas, se reprime la síntesis de fosfatasa alcalina y las células muestran poca capacidad para utilizar compuestos orgánicos de fósforo. Generalmente, una vez que se ha agotado el fosfato inorgánico externo, el fósforo intracelular de los polifosfatos y el ortofosfato almacenados se consume rápidamente (Lundberg *et al.* 1989), seguido de un aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina. Weich y Graneli (1989) encontraron que la actividad de la fosfatasa alcalina en *Viva lactuca* fue estimulada por la limitación del fósforo y por la luz. La magnitud del aumento fue específica de la especie y dependió de la disponibilidad de fosfatos orgánicos y del grado de limitación de fosfato experimentado por las células (Healey 1973; Cembella *et al.* 1984).

El fosfato inorgánico transportado a través del plasmalema entra en una reserva dinámica de fosfato intracelular a partir del cual se incorpora a metabolitos fosforilados (Chopin *et al.* 1990) o se almacena como fósforo de lujo en vacuolas o en vesículas de polifosfato en algas (Lundberg *et al.* 1989) (Figura 5). Parte de la reserva de fosfato citoplásmico puede filtrarse fuera de la célula y reaparecer como fosfato externo. Las algas deficientes en fósforo poseen la capacidad de incorporar fosfato extremadamente rápido, y la cantidad absorbida generalmente excede los requisitos reales de la célula. El exceso se convierte en polifosfatos mediante la acción de la polifosfato quinasa:

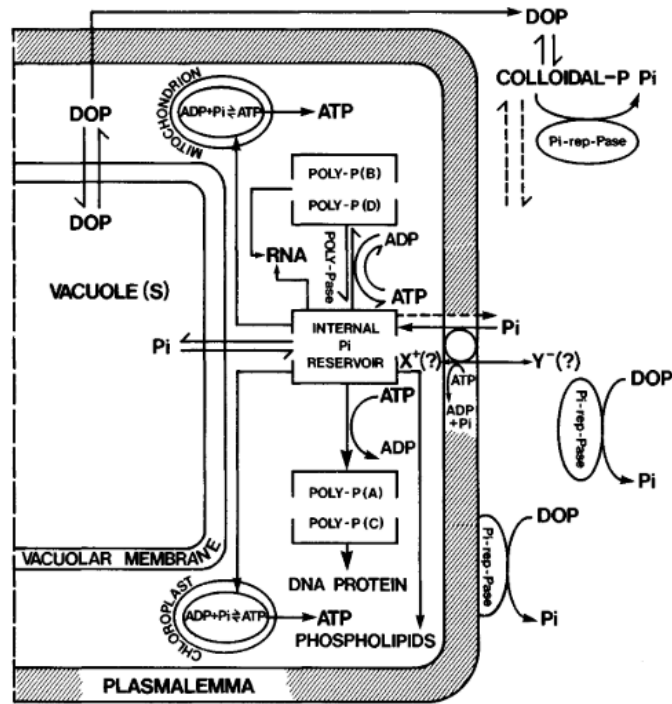
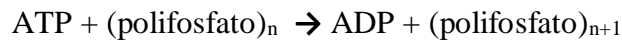


Figura 5. Principales características de la captación y asimilación de fósforo en una célula de microalgas. DOP, fosfato orgánico disuelto; Pi, fosfato inorgánico. (De Cembella *et al.* 1984, reimpresso con permiso de Critical Reviews of Microbiology 10: 317-91, © 1984 CRC Press, Boca Raton, Fla.)



(Kuhl 1974; Cembella *et al.* 1984). Una diferencia importante entre el metabolismo del fósforo en las plantas vasculares y el de las algas es la formación de estas polifosfatos; las algas que se sabe que forman polifosfatos incluyen especies de *Viva*, *Enteromorpha*, *Ceramium* y *Vlothix* (Kuhl 1962; Lundberg *et al.* 1989).

2.9. Sales de Grado Analítico

Varios medios de cultivo elaborado con sales de grado analítico como Provasoli (PES), Von Stock (VS) y otros, se utilizan para cultivar *Porphyra* sp. en su fase Conchocelis, pero esta elección del medio depende de las especies de *Porphyra* utilizadas, así como también de la experiencia adquirida por el investigador al utilizar los diversos medios. Como resultados, algunos de los medios de cultivo originales se han modificado para producir mejores tasas de crecimiento (Dlaza, 2010).

El agua de mar en la mayoría de casos se enriquece con oligoelementos y vitaminas que pueden estar presentes en cantidades insuficientes o que faltan en el agua de mar natural. Por ejemplo, en su suplementación con $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de KNO_3 y $1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-P}$ como su medio de cultivo. Por otro lado, (Hafting 1999) utilizó agua de mar filtrada enriquecida con

trazas de metales y vitaminas; así mismo, experimentos de la Universidad de Ciudad de Cabo (Dai *et al.* 2004) utilizaron agua de mar hervida enfriada siguiendo la receta f/2 de (McLachlan 1973). Otros investigadores (Orfanidis 2001, Carmona *et al.* 2006) utilizaron la solución de Von Stock (VS) para enriquecer el agua de mar, mientras que (Uppalapati y Fujita 2000) utilizaron un medio de agua de mar enriquecido modificado (revisado por Tompkins *et al.* 1995 de Schreiber 1927) que contiene $20 \text{ mg L}^{-1} \text{ Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ y 1 mL L^{-1} de mezcla de metales traza. Sin embargo, el medio de cultivo utilizado más frecuentemente (por ejemplo, en Candia *et al.*, 1999; Katz *et al.*, 2000; Choi *et al.*, 2002) implica el uso de agua de mar filtrada que ha sido esterilizada y enriquecida con solución enriquecida Provasoli (PES) (detalles en Provasoli 1968, modificado en McLachlan 1973). Esta solución ha sido modificada por (West y McBride 1999) en (Andersen 2005).

La formulación de Provasoli (PES) contiene un conjunto de sales utilizadas como fuente de nitrógeno y fósforo inorgánico para el crecimiento celular y desarrollo de ácidos nucleicos en *Solieria filiformis*, *Grateloupia doryphora*, *Gracilaria verrucosa*, *Gelidium arbuscula*, y otros (Provasoli 1968); por otro lado, la fórmula Von Stock (VS) también es usada en el medio de cultivo para *Porphyra* sp. que reemplaza al nitrógeno como fuente de nitrato a amonios (Redmond *et al.* 2014). Así mismo, los nutrientes mencionados son más sofisticados y costosos, son trabajados a nivel de laboratorio a pequeña escala por diferentes investigadores; sin embargo, este trabajo se proyecta a tener cultivos a gran escala, por esa razón se trabajará con los nutrientes comerciales que presentan semejantes niveles de nitrato y fosfatos, además que son de bajo precio y se utilizará para el cultivo de *Porphyra* sp.

La captación de estos iones desde el medio por las algas está condicionada por procesos de transporte pasivo a través de la plasmalema y por los de transporte activo por la pared celular. La mayoría de los nutrientes son transportados activamente al interior de la célula. El ingreso puede ser perturbado por el grosor de la capa límite (Lobban & Harrison 1994).

2.10. Hábitat

Uno de los procesos fundamentales en la historia de vida de un alga marina es la colonización de un nuevo sustrato (Fletcher y Callow 1992). El sustrato está representado por rocas masivas, cantos rodados, guijarros, arena, lodo y por sustratos vivos como plantas y animales diversos (Acleto y Zuñiga 1998). La mayoría de las algas colonizan nuevos sustratos mediante la formación y desprendimiento de propágulos de una planta madre (Fletcher y Callow 1992). Sin embargo, la mayoría de las especies dependen de la liberación de esporas

y que estas establezcan contacto con un sustrato adecuado (Granhag *et al.* 2007). La liberación se lleva a cabo habitualmente en las proximidades de un sustrato, ya sea cuando la porción fértil queda atrapada o se aísla en una piscina intermareal (Fletcher y Callow 1992).

El asentamiento es la etapa por la cual las esporas localizan una superficie y establecen contacto superficial. Esta etapa está asociada por una serie de señales a nivel del sustrato (topográfico, físico-químico), biológico (biofilms, epifitas), químico (compuestos difusibles atractivos o inhibidores) o hidrodinámico (Maggs y Callow 2002). Aunque, la superficie del sustrato afecta en gran medida el éxito del asentamiento, ya sea que las esporas sean móviles o no (Lobban y Harrison 1994). El proceso de asentamiento requiere de la capacidad de las esporas para detectar y responder a las condiciones ambientales que favorezcan su supervivencia. Las respuestas más conocidas son la topografía superficial del sustrato (respuesta tímotáctica) y la luz (respuesta Fotografiatáctica); también puede influir la energía superficial (Fletcher y Callow 1992).

Las observaciones en campo han llevado a muchos autores a concluir que las esporas de algas prefieren asentarse sobre superficies rugosas (Blouin *et al.*, 2007). El asentamiento sobre sustratos ásperos proporciona una mayor área de superficie para la fijación y protege a las esporas de la desecación, la acción de las olas y la depredación (Maggs y Callow 2002). Se ha demostrado que pequeños elementos de rugosidad pueden crear microambientes locales con flujo reducido adecuado para el asentamiento (Callow *et al.* citado por Granhag *et al.* 2007). Así mismo, las altas velocidades de flujo afectan el asentamiento de esporas dado que ocasionan que las esporas recién colonizadas se desprendan del sustrato (Granhag *et al.* 2007).

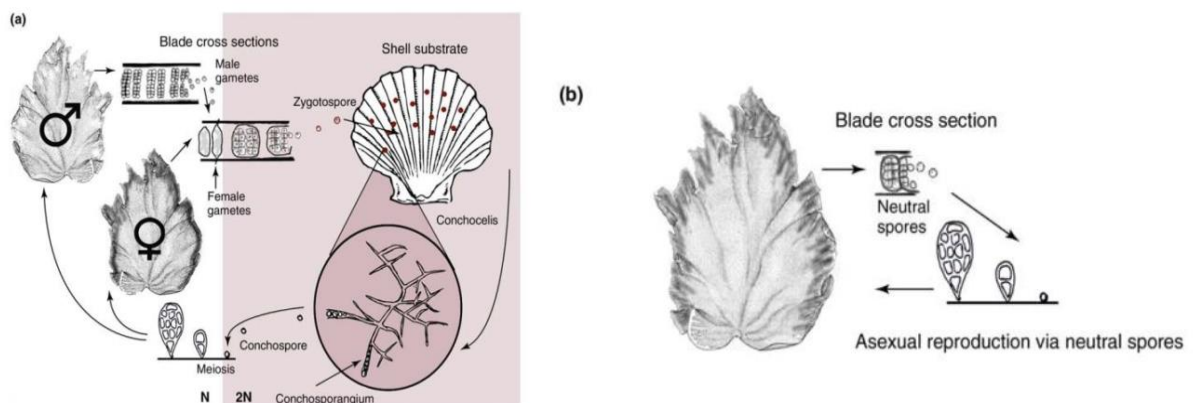


Figura 6. La historia de vida de *Po. umbilicalis* que muestra tanto la fase sexual reproductiva con un conchosporangium (a) y la fase reproductiva asexual a través de esporas neutras (b) Fuente: figura extraída de (Blouin *et al.* 2011).

2.11. Fase Conchocelis

La fase conchocelis también conocida como fase de fijación de concha (Thomas 2002), se da en forma natural y artificial en conchas de moluscos que constituye la etapa más importante del ciclo vital complejo de *Porphyra* sp. (Aceto y Zuñiga 1998 y Romo *et al.* 2005). En la naturaleza la fase conchocelis crece en primavera y verano (estaciones de día largo) que se fija a un sustrato calcáreo de moluscos donde cava agujeros en las conchas formando manchas rojas producto del crecimiento vegetativo; mientras que la fase frondosa del talo crece en otoño e invierno (estaciones de día corto) (MacFarlane 1966; Thomas 2002 y Redmond *et al.* 2014).

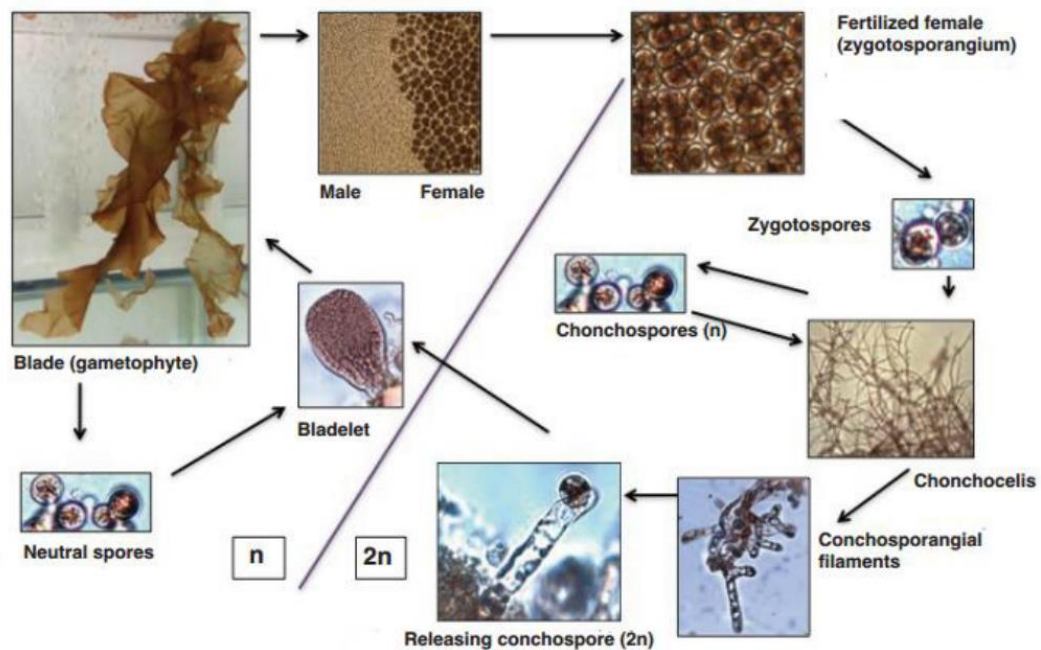


Figura 7. Ciclo de vida de “nori”. Tomado de Redmond *et al.* 2014

2.11.1. Cultivo de *Porphyra*

Los métodos de cultivo del género *Porphyra* en todos los países son básicamente muy similares, con pequeñas adaptaciones a las áreas de cultivo y prácticas tradicionales de los acuicultores locales (Sahoo y Yarish 2005). Solamente, el cultivo de la fase microscópica conchocelis de *Porphyra* sp. se lleva a cabo en ambientes controlados (laboratorios); debido a que son difíciles de estudiar en campo. (Lin *et al.* 2008 y Dlaza 2011). Mientras que el talo frondoso recién formado puede ser cultivado en el mar o en tanques en tierra (Dlaza 2011).

El cultivo de la fase conchocelis se basa en el crecimiento y maduración de conchocelis en sustratos de concha de moluscos. Existen dos métodos de inoculación en conchas. El método

preferido es utilizar finos fragmentos de filamentos vegetativos de conchocelis de crecimiento libre. Sin embargo, este método requiere grandes masas de conchocelis libre (Melvin *et al.* 1986). Un método alternativo es la inoculación directa a las conchas con esporas liberadas mediante trozos de hojas fértiles de *Porphyra* sp. en tanques de siembra, que se retiran después de la liberación de las carposporas o cigotosporas (Melvin *et al.* 1986 y Sahoo y Yarish 2005). También para la siembra se puede utilizar una suspensión de zigotosporas que consiste en el secado al aire libre del talo fértil durante la noche y luego sumergirlo en agua de mar durante 4 a 5 horas hasta la mañana siguiente. La suspensión se introduce entonces en el tanque de siembra, donde las esporas se asientan sobre los sustratos (Sahoo y Yarish 2005).

El cultivo de conchocelis se desarrolla generalmente en conchas de ostras puestos en tanques con agua de mar. Las conchas de ostras u otros moluscos se colocan en el fondo de tanques poco profundos llenos con agua de mar esterilizada para que tenga lugar la siembra (MacFarlane 1966 y Sahoo y Yarish 2005). Después de la siembra del sustrato, se realizan cambios ocasionales del agua de mar durante desarrollo de la fase conchocelis, desde el asentamiento de las zigotosporas hasta el crecimiento y maduración del conchocelis (MacFarlane 1966).

Se usan diversos medios de cultivo para cultivar conchocelis de *Porphyra* sp. La mayoría de los medios de cultivo implican el enriquecimiento del agua de mar con metales traza y vitaminas que pueden estar presentes en cantidades insuficientes en el agua de mar. Los principales nutrientes que limitan el crecimiento de *Porphyra* incluyen el fósforo inorgánico y el nitrógeno que se encuentran usualmente en concentraciones relativamente pequeñas en agua de mar (Steven 2011).

2.11.2. Crecimiento de la fase Conchocelis

Las zigotosporas de los talos fértiles de *Porphyra* sp. presentan una forma redondeada según estudios de (Joly y Yamaguishi 1963) muestran que la fase Conchocelis es diploide; aparte de ellos, las investigaciones de (Krishnamurthy 1969, Etcheverry y Collantes 1977, Hoffmann y Camus 1989) demuestran que el diámetro de zigotosporas varía entre 10 μm a 20 μm , éstas producto de una fusión de las células sexuales y sus núcleos antes de su formación pueden germinar y perforan las conchas lateralmente para dar uno, dos o tres filamentos estrechos que se alargan gradualmente (Drew 1954; Joly y Yamaguishi 1963, Etcheverry y Collantes 1977). Al transcurrir los días las células se dividen e inician un patrón

irregular de ramificación característico hasta la formación del conchocelis filamentosos que se caracteriza por un color rojizo intenso. Además, conforme avanza el desarrollo de los filamentos de conchocelis se forman filamentos únicos ramificados conocidos como conchosporangios (Joly y Yamaguishi 1963, Etcheverry y Collantes 1977).

Tabla 2: Condiciones de cultivo para la etapa de germinación y crecimiento de la fase conchocelis de *Porphyra sp.*

Parámetro	Germinación y Crecimiento de Conchocelis		
	Valor	<i>Porphyra sp.</i>	Autores
Temperatura	10-15 °C	<i>P. columbina</i> ; <i>P. torta</i> ; <i>P. hollenbergii</i>	Avila <i>et al.</i> 1985; Waaland <i>et al.</i> 1987; Frazer y Brown 1995; López-Vivas <i>et al.</i> 2014
Irradiancia	40-100 umol Fotosíntesis/m ² s	<i>P. columbina</i> ; <i>P. torta</i> ; <i>P. hollenbergii</i>	Avila <i>et al.</i> 1985; Waaland <i>et al.</i> 1987; Frazer y Brown 1995; Sahoo y Yarish 2005; López-Vivas <i>et al.</i> 2014
Fotoperíodo	12L:12 D; 14L:10 D o 16L:8D	<i>P. columbina</i> ; <i>P. torta</i> ; <i>P. hollenbergii</i>	Avila <i>et al.</i> 1985; Waaland <i>et al.</i> 1987; Frazer y Brown 1995; Sahoo y Yarish 2005; López-Vivas <i>et al.</i> 2014

2.11.3. Fotografíasíntesis y respiración de Conchocelis

Estos Conchocelis se cultivan de manera discontinua y se utilizan para sembrar conchas para eventual liberación de los conchosporas, que germinan en el valor comercial de fase frondoso (Sohn 2006). Desde la Fotografíasíntesis y la respiración pueden reflejar la condición metabólica de algas marinas de responder a los cambios ambientales (Karsten and Kirst 1989, Bischoff-Baßmann and Wiencke 1996, Warner *et al.* 2002, Schubert *et al.* 2006), es importante estudiar los efectos de los factores ambientales sobre estos procesos fisiológicos del cultivo *Porphyra* en su etapa Conchocelis. El seguimiento de estos procesos serán ayudar en la optimización de las condiciones de crecimiento para las algas cultivadas.

III. METODOLOGÍA

3.1. Colecta de las muestras

La playa Santa Elena está ubicada en la Bahía de Paracas ($13^{\circ}49'36''S$; $76^{\circ}16'22''O$) en la provincia de Pisco, región Ica, Perú. Los individuos se transportaron al Laboratorio de Biología Aplicada ubicado en el Centro Modelo de Tratamientos Residuos (CEMTRAR) de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú, en contenedores térmicos aislados en frío (tipo cooler) para evitar su estrés térmico o radiación del sol al transportar del Santa Elena a la UNALM.

Se colectó frondas fértiles (**Anexo 13, Fotografía 1**) de *Porphyra* sp. (presentaron una coloración rojiza en los márgenes del talo) ya que son las características de la revisión taxonómica de varias muestras colectadas (Acleto y Endo, 1977) que se registraron (además de *P. columbina*) tres especies: *Porphyra pseudolanceolata* Krishnamurthy, *Porphyra tenera* Kjellman y *Porphyra thuretii* Dawson. Finalmente,ACLETO (1984) mencionó a *Porphyra crispata* Kjellman como un nuevo registro para la flora marina peruana.

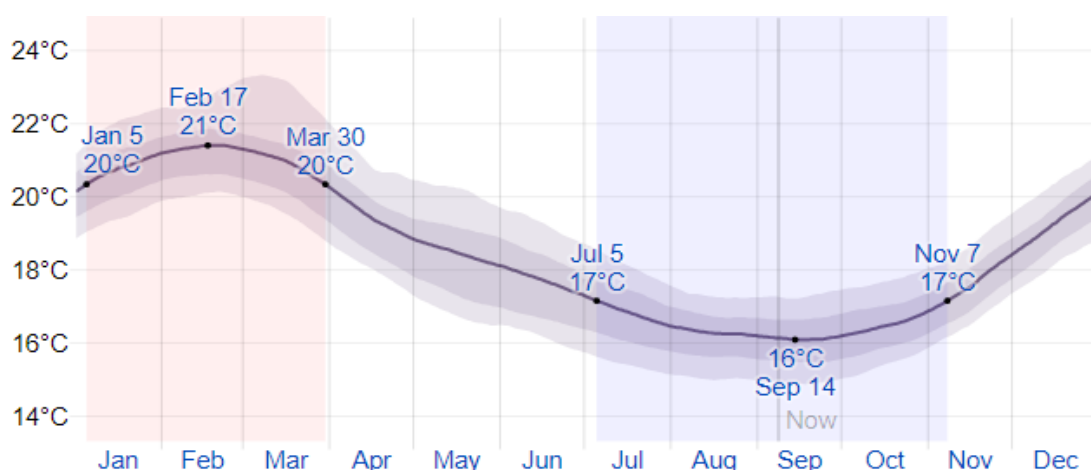


Figura 8. Temperatura superficial promedio del agua de mar al año en la localidad de Paracas, Pisco (tomado de weatherpark.com, revisado en 2019)

Por otro lado, la temperatura superficial del mar (Paracas) presentó valores mínimos durante el año con agua más fría que tiene una duración de 4,1 meses, de 5 de julio a 7 de noviembre

con una temperatura promedio por debajo de 17°C. El día del año con el agua más fresca fue 14 de septiembre, con una temperatura media de 16°C.

3.1.1. Limpieza del material de trabajo

Para realizar este trabajo se contó con las condiciones de limpieza óptimas, especialmente la mesa de trabajo y los utensilios de vidrio, plástico o metálicos, tales como pinzas y agujas de disección. Se limpiaron los talos fértiles con agua de mar esterilizada. Se tuvo una concentración de solución Yodopavidona 0.1 por ciento, se sumergieron las algas en un vaso precipitado de un 1.0 L con agua de mar junto con la solución yodada por un tiempo de 20 segundos y, se usaron hisopos para frotar los talos fértiles. Seguidamente, se cortaron las áreas reproductivas de los márgenes de la fronda; los cuales, posteriormente, fueron colocados en papel absorbente con la finalidad de retirar la humedad. Después, se colocaron en placas Petri cubiertas con papel aluminio y se refrigeraron por 24 horas a una temperatura de 5°C (Anexo 13, Figura 7).

A la mañana siguiente, al transcurrir 12 horas del iniciado de estrés, se pesaron 1.0 g de trozos fértiles o reproductivas de “cochayuyo” de las placas Petri, los cuales se sumergieron en un matraz de 1 L con agua de mar filtrada esterilizada (sin nutrientes) y esterilizada a 20°C durante 10 a 12 horas. Así mismo, el matraz fue cubierto completamente con papel aluminio y estuvo sometido a moderada aireación para evitar el asentamiento de las cigotosporas en el fondo del matraz.

3.1.2. Limpieza de los Bivalvos

Se realizó la limpieza de las valvas y cepillar con detergente, se enjuagó en forma similar al material de vidrio y se retiró cuidadosamente el periostraco cuando éste estaba presente. Seguidamente, se sumergieron en una solución de hipoclorito 4.5% durante 12 horas y posteriormente se lavaron en agua destilada y secaron en estufa a 60°C (Alveal et al, 1995).

3.1.3. Medición del área Convexa del Bivalvo

Las conchas enteras fueron lavadas con detergente y, luego, se determinó el área convexa de la superficie de la valva con un software FIJI-ImageJ que mediante fotografías que fueron tomadas a todas las valvas a una altura de 20 cm se pudo determinar el área de cada una de ellas para saber la cobertura de crecimiento (Tabla 5).

3.2. Esterilización del agua de mar

3.2.1. Filtrado del agua de mar

La fase microscópica conchocelis y los talos juveniles de “cochayuyo” son sensibles a la contaminación. Aunque no es necesario tener cultivos axénicos para cultivar el cochayuyo, es deseable mantener cultivos unialgales para evitar la competencia por el sustrato y/o nutrientes. Diversos experimentos realizados anteriormente han demostrado la necesidad de mejorar el control de la calidad de agua y reducir la cantidad de microorganismos en las etapas de asentamiento y germinación de esporas. Para el éxito del cultivo de la fase microscópica (fase conchocelis) se requiere de agua de mar en condiciones adecuadas que sustenten la etapa de asentamiento y germinación, lo cual se consigue a través de procesos de filtración y esterilización (Alveal et al, 1995).

Proceso de filtración. - En primer lugar, el agua de mar se sometió a un proceso de filtrado mediante un sistema RAS mediante 3 cartuchos de filtros hilados de polipropileno de 10 micras, 5 micras y a 1 micra) por 24 horas, cuyo objetivo fue retener los sólidos que proviene del mar y causan interferencia en la medición a través del láser del Fotografiacolorímetro.

Proceso de esterilización mediante UV. - El agua de mar filtrada por el sistema RAS pasa a través de la lámpara UV acoplada a éste, donde es expuesta a la radiación ultravioleta, destruyendo cualquier microorganismo remanente.

3.2.2. Cloración de agua de mar

Posterior al proceso de filtración y esterilizado UV, el agua de mar fue sometida a un proceso de esterilización por cloración. Se agregó 2 mL de Cloro líquido por Litro de agua de mar. Posteriormente, el agua de mar clorada fue mantenida con aireación moderada por mínimo 24 horas. Pasado el tiempo, el agua clorada fue titulada con una solución de **tiosulfato** para que el agua puede ser liberada completamente del cloro. Se agregaron 2 mL de solución de tiosulfato 0.498 M por Litro de agua clorada. Para preparar la solución de tiosulfato se agregaron 10 g de tiosulfato de sodio en 100 mL de agua destilada. Finalmente, luego de agregar la solución de tiosulfato al agua clorada, se corroboró que no haya cloro disuelto en el agua de mar. Para lo cual se utiliza un kit de cloro para evaluar la presencia o ausencia de cloro. (**Fotografía 6 del Anexo 13**).

3.2.3. Esterilización mediante autoclave

Una vez corroborada la ausencia de cloro en el agua de mar, el agua es vertida en vasos precipitado de 500ml con su respectiva concha de abanico (*A. purpuratus*) al fondo de cada vaso precipitado con posición convexa hacia arriba y que cubra la totalidad de la base (**Anexo 13, Fotografía 5**) para tener mayor área de asentamiento disponible por las cigotosporas. Ya una vez colocada el agua y la valva, se sometieron a la autoclave por 25 minutos a una temperatura de 121°C. Al culminar el tiempo de esterilización, se dejaron enfriar por 2 horas para agregar los nutrientes comerciales, Bayfolan® con diferentes proporciones 25%,50% y 100% y solución hidropónica La Molina, soluciones concentradas A y B a diferentes proporciones ya mencionadas.

Cada vaso precipitado fue rotulado con las diferentes proporciones y nombre de los tratamientos y fueron colocados dentro de la cámara de germinación para que vayan teniendo una temperatura de trabajo de 15°C como se observa en **Anexo 13, Fotografía 12**.

3.2.4. Cámara de Germinación para Conchocelis

Es importante estudiar los efectos de los factores ambientales sobre estos procesos fisiológicos del cultivo *Porphyra* en su etapa conchocelis, siendo estos la temperatura óptima por cada proceso esporofita, intensidad de luz (Fotografía periodo, horas de luz). El seguimiento de estos parámetros mencionados será las condiciones de crecimiento de conchocelis cultivadas en las valvas en una cámara de germinación con Fotografía periodo de la marca TE 400/1. En este estudio, debido a que la razón principal para estos experimentos estaba relacionada con el cultivo artificial, también se examinaron otros parámetros como: Nitratos (NO₃), Fosfato (PO₄) y pH. (**Fotografía 15**).

Tabla 3: Condiciones de cultivo para las etapas de asentamiento y crecimiento de la fase conchocelis de *Porphyra* sp.

Parámetros	Asentamiento	Crecimiento	Autores
Temperatura	15 °C	15 °C	Avila <i>et al.</i> 1985; Waaland <i>et al.</i> 1987; Frazer y Brown 1995; López-Vivas <i>et al.</i> 2014
Fotografía periodo	14DL:10DC	14DL:10DC	Avila <i>et al.</i> 1985; Waaland <i>et al.</i> 1987; Frazer y Brown 1995; Sahoo y Yarish 2005; López-Vivas <i>et al.</i> 2014
Irradiancia	4000 lux	4000 lux	Avila <i>et al.</i> 1985; Waaland <i>et al.</i> 1987; Frazer y Brown 1995; Sahoo y Yarish 2005; López-Vivas <i>et al.</i> 2014

3.3. Liberación de Cigostopora

3.3.1. Transferencia de talos reproductivos

Los talos cortados fueron retirados luego de estar sometidos a estrés por una hora. Se usaron guantes de nitrilo para la manipulación; cuidadosamente se retiró el papel aluminio y se cogieron las estructuras reproductivas con pinza estéril para transferirlos dentro de matraces estériles, todo esto fue realizado dentro de una cámara de flujo laminar; seguidamente, se llenaron con agua de mar enriquecida con los fertilizantes comerciales y tapados con Parafilm (**Anexo 13, Fotografía 8**).

3.2.2. Aireación constante

Se diseñó un sistema de aireación cuyo flujo promedio es de $7.2 \pm 0.8 \text{ L*s}^{-1}$ para cada matraz siendo un total de cinco con el mismo peso de 1g por matraz, seguidamente los matraces fueron cubiertos con papel aluminio y el tiempo de aireación fue de 24h para que liberen las cigotospora. (**Fotografía 9, Anexo 13**).

En la **Fotografía 10** se mostrará una coloración rojiza, cuya razón es la densidad de los cigotospora y es producido por la turbulencia que generó la aireación según detallan Melvin *et al.* (1986); Romo y Paula (1995); Sahoo y Yarish (2005).

3.2.3. Conteo de Cigotospora

Se utilizó matraces de cultivo de Cigotosporas al culminar las 24h de aireación (**Fotografía 11**) para utilizar la cámara de recuento cámara de Neubauer y determinar la densidad de esporas por cada matraz y se estimará el número de cigotosporas/litro de solución (Redmond *et al.*, 2014). Cabe mencionar, que se seleccionó al de mayor densidad celular para realizar la experimentación; además se filtró en un tubo con una maya de $100\mu\text{m}$ para separar los sólidos que provienen del agua de mar.

3.4. Inoculación de Cigotosporas y Asentamiento

Se utilizó el caldo de cigotosporas con el mayor número de cigotospora $1,25 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$, se usó 40 ml de la solución madre para cada unidad experimental, vertiendo con una pipeta esterilizada de 10 ml; además se agregó 2ml de dióxido de germanio (GeO_2) por litro, ya que el factor de contaminación es el desarrollo de diatomeas, cuyo rápido crecimiento puede inutilizar el cultivo de la especie de interés según Ledwin (1966). Se selló el vaso de precipitado con Parafilm para evitar cualquier fuente de contaminación del medio externo.

Las valvas que están ya con las cigotosporas están en asentamiento será mantenido sin aireación por dos semanas con un Fotografiaperiodo neutro (12 horas luz y 12 horas oscuridad) a 15°C. Posteriormente, se retiró la valva para evaluar el número de cigotosporas asentadas y luego se cambió el medio de cultivo semanalmente para evaluar los parámetros de nitrato, fosfato y otros.

Se contó el número de esporas asentadas **72 horas después de la siembra en el Estereoscopio**. De esta manera, se determinó el porcentaje de asentamiento (# de esporas asentadas / # de esporas sembradas) y se determinó la densidad de asentamiento (# de esporas asentadas y germinadas/valva). Después de 48 horas, después de la siembra se contó el número de esporas germinadas donde se determinó la densidad de germinación (# de esporas germinadas/valva) y porcentaje de germinación (# de esporas germinadas / # de esporas asentadas) (Conitz *et al.*, 2013).

3.5 Método de análisis

3.5.1. Medición de Nitrato (NO_3^-)

La medición de nitrato mg/L se dio en todas las Unidades Experimentales con la extracción de 20 ml de la muestra en tubos de ensayo para usar los reactivos 1 de pastilla# y llevar al vortex para homogenizar y dejar precipitar por 10 minutos. Seguidamente se retiró 10ml del remanente del precipitado para llevar al tubo del Fotografiacolorímetro y se vertió la pastilla 2, nuevamente se llevó al vortex para homogenizar cuyo resultado es una coloración rojiza, seguidamente se llevó al Fotografiacolorímetro de la marca *YSI 9500* y se registró la data. Finalmente se limpió con agua destilada los tubos por cada medición. (**Fotografía 14**).

3.5.2. Medición de Fosfato (PO_4)

La medición de fosfato mg/L se dio en todas las unidades experimentales seguidamente de la medición del parámetro anterior. Se extrajo 10ml de la muestra en los tubos de Fotografiacolorímetro y se usaron dos pastillas que vienen en el kid de medición, siendo la primera pastilla 1 triturada con su varita de plástico y se llevó al vortex para homogeneizar, seguidamente se usó la segunda pastilla 2 de igual manera se trituró con su propia varita de plástico para luego llevar al vortex y homogeneizar, resultando una coloración azul clara, inmediatamente se llevó al Fotografiacolorímetro para registrar la medición (**Fotografía 14**).

3.5.3. Crecimiento de biomasa de conchocelis

Al pasar tres semanas de asentamiento se observó el crecimiento de manchas rojizas en la superficie de las valvas, se tuvo que retirar cada valva del fondo de cada vaso precipitados y llevar al estereoscopio para contabilizar los puntos rojos que hay en toda la superficie de la valva, luego de cinco minutos de observación, se humedeció con agua de mar para seguir observado; seguidamente, se transfirió la valva al microscopio con cámara del mismos microscopio trinocular incorporada para medir el diámetro del crecimiento de conchocelis cada 600 horas desde que se observó la primera vez. Con el software de EuroMex-Image para Fotografiar y medir el crecimiento (área en mm²), volumen asentado y luego analizar el volumen o área de crecimiento por cada conchocelis, con las siguientes expresiones matemáticas para hallar la tasa de crecimiento.

Volumen Promedio

Se calculó mediante metodología de Stekoll *et al.*, (1999), en la cual a través de los diámetros en materiales se obtienen los volúmenes con la fórmula $V = 1/6 * \pi * d^3$, donde “d” representa un diámetro promedio entre (D₁ y D₂), a través de esta fórmula se calcularon los volúmenes promedio. Así mismo, los datos serán llevados a la siguiente expresión matemática para determinar la tasa de crecimiento específica o porcentaje de crecimiento específico por día para conchocelis.

Tasa de Crecimiento:

$$\mu = 100 [\ln (C_t - C_o)] / t_1 - t_2$$

Donde:

μ : Tasa de crecimiento específica para conchocelis

C_t : área final en mm

C_o : área inicial en mm

$t_1 - t_2$: Tiempo de biomasa inicial y final

*Esta ecuación asume que el crecimiento es exponencial

El resultado de esta fórmula determina el crecimiento de Conchocelis (en porcentajes) del área de las bolitas oscuras al día. Este método fue descrito por Pereira *et al.* (2004) y asume un crecimiento exponencial.

3.6 Diseño Experimental

En la etapa de asentamiento y crecimiento del conchocelis se aplicó un diseño completo DCA tratamientos (0%, 25, 50 y 100 por ciento), tres unidades experimentales (conchas de

abánico) y 3 repeticiones. Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA de un solo factor. Para ello, se usó un $\alpha=0.05$ donde previamente se examinaron las suposiciones de ANOVA (homogeneidad de varianzas y distribución normal). Para determinar el crecimiento de conchocelis entre los tratamientos de nutrientes se realizó comparaciones donde se utilizó la prueba Tukey.

Tabla 4: Diseño experimental del crecimiento *conchocelis*

Tiempo de crecimiento de conchocelis				
3 meses días de observación				
Concentración	0%	25%	50%	100%
<i>Nutriente</i>				
<i>Bayfolan</i> [®]	---	3 vasos + 3 conchas	3 vasos + 3 conchas	3 vasos + 3 conchas
<i>Solución A y B</i>	---	3 vasos + 3 conchas	3 vasos + 3 conchas	3 vasos + 3 conchas
<i>Agua de Mar</i>	3 vasos + 3 conchas	---	---	---

3.7 Formulación de la hipótesis

Ho: El crecimiento de la fase conchocelis de *Porphyra* sp. es afectado por las diferentes concentraciones de los nutrientes comerciales Bayfolan[®] y las soluciones hidropónicas La Molina A y B.

H1: El crecimiento de la fase conchocelis de *Porphyra* sp. no es afectado por las diferentes concentraciones de los nutrientes comerciales Bayfolan[®] y las soluciones hidropónicas La Molina A y B.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Diversidad de *Porphyra* sp. en Costa Peruana

El género *Porphyra*, tradicionalmente conocido como nori en Japón, kim en Corea y zicai en China, comprende aproximadamente 70 especies (Rao *et al.*, 2007). Este género, cuya clasificación se describe en la Figura 1, crece en las costas rocosas del mundo, incluyendo los trópicos y los polos. La mayor diversidad se puede encontrar en las regiones boreales o en zonas con clima frío a templado (Brodie y Irvine, 2003).

No se puede dejar de mencionar que recientemente Sutherland *et al.*, (2011), han propuesto un cambio en la clasificación científica del género *Porphyra*, denominándose dicho género: *Pyropia*. Por lo tanto, *P. columbina* pasaría a denominarse *Pyropia columbina*. Como esto no ha sido ampliamente difundido ni validado por la comunidad científica (Cian, 2014), en la presente tesis se continuará utilizando la clasificación tradicional (Figura 9).



Figura 9. *Porphyra* sp. recolectada de las rocas de la playa Santa Elena, Paracas-Pisco, Ica-Perú.

Por otro lado, los resultados con marcadores moleculares (Márquez, 2019) donde se determinó la presencia de ocho especies de Bangiales foliosas en la costa peruana, *Porphyra* y *Pyropia* son los géneros con mayor diversidad con 3 y 4 especies respectivamente y *Miuraea* es representado por un espécimen. Las especies que originalmente fueron registradas en regiones diferentes de la costa del Pacífico Sudamericano están representadas por un solo espécimen en la costa peruana como el caso exclusivo para Perú como *Porphyra* sp. PEA y *Porphyra* sp. PEB, aunque estas especies podrían estar en otras costas, pero todavía no están reportadas según (Márquez, 2019).

4.1 Áreas superficiales de las conchas de abanico

Se han realizado mediciones de diámetro de conchocelis desde el día del asentamiento como según Waaland *et al* (1987) utilizaron el incremento en diámetro para evaluar el incremento de ramilletes de conchocelis de *Porphyra contorta*. Así mismo, siempre se usaron trozos de conchas para probar la evasión herbívora ante la presencia de gasterópodos (Romo y Navarrete, 1988). Sin embargo; en el presente trabajo se utilizó toda la valva entera como es recomendado por Matamala *et al.* (1985). Se puede apreciar en la Figura 15 j) la concha del bivalvo que presenta “manchas” evidenciando el crecimiento de conchocelis; así mismo se hizo un monitoreo en paralelo del crecimiento de conchocelis en portaobjetos (Ruangchuay y Notoya, 2003); ya que no se puede observar el crecimiento de conchocelis dentro de la bivalvo (Figura 15 a, i)); así mismo, se tomó fotografías de la superficie convexa de todos los bivalvos para determinar el área superficial mm² de conchocelis como se visualiza en la Tabla 5; además se obtuvo el porcentaje de cobertura de conchocelis en el bivalvo (Gonzalez, 2018).

Tabla 5: Área superficial convexa de las valvas con el software FIJI-ImageJ

Área mm ² *	Mean (mm)	StdDev (%)	Min (mm)	Max (mm)	Perim (cm)	Cobertura %**	
4334.8	1924.13	3.718	1010	2320	24.903	15.71	25Bay
3987.5	1855.63	4.242	1100	2300	24.002	16.25	
4688.8	1772.42	3.335	1180	2220	25.882	13.52	
4225.8	1967.45	4.356	1200	2450	24.783	18.82	25AyB
4278.6	1858.47	4.33	1200	2540	24.903	16.23	
4856.1	1800.88	4.248	1200	2540	26.298	17.71	
6166.5	1816.61	4.42	1120	2210	29.653	43.95	50Bay
5157.4	2027.53	4.565	1120	2500	27.32	52.85	
5133.6	2019.66	4.113	1120	2440	27.284	49.74	

Continuación ...

Área mm ² *	Mean (mm)	StdDev (%)	Min (mm)	Max (mm)	Perim (cm)	Cobertura %**	
4776.2	2075.36	3.264	1140	2450	26.197	25.65	50AyB
5513.4	1847.96	2.645	1140	2430	28.241	25.78	
4721.2	1826.28	3.146	1140	2440	26.386	32.48	
4924.7	2053.7	4.378	1140	2360	26.661	48.84	100AyB
4683.5	19.5.9	4.629	1140	2370	25.863	45.48	
4920.3	1800.97	4.32	1140	2140	26.601	54.93	
4352.8	1895.92	2.325	1150	2140	25.107	71.56	100Bay
5040.9	2069.48	4.316	1150	2330	27.04	61.52	
5168	2038.55	3.142	1150	2280	27.636	56.19	
6694.3	2124.95	3.146	1170	2480	31.068	1.90	Control
5992.8	1875.12	3.453	1170	2360	29.307	1.72	
5219	1887.66	2.107	1170	2280	27.727	2.82	

Los bivalvos no presentan la misma área superficial (*) ya que varían de 4225.8 a 6694.3 mm²; estos presentan diferencias en la desviación estándar no mayor del 5%, cuya razón es el tamaño de los bivalvos, ancho, largo e inclusive alto, ya que la altura le da una curvatura inclinada, generando en ellas mayor área superficial. Además; se obtuvo la cobertura (**) de conchocelis en la superficie convexa del bivalvo.

4.2. Determinación de la calidad de agua de mar

Se observó en los ensayos que el agua de mar proveniente de Paracas-Pisco, presentaba alta carga de material particulado, dificultando el análisis de diferentes parámetros. Por eso se tuvo la necesidad de diseñar un sistema RAS con UV integrado para descargar la carga microbiana; además, se añadió cloro con una dosis de 2ml por litro de agua de mar, pero a pesar de ello, no era suficiente, ya que evidencia la aparición de diatomeas y ciliados que interrumpían el crecimiento de conchocelis (Ramírez, 1993). Por ello, tuvimos la necesidad de someter a un último tratamiento de esterilización, autoclave a 121°C por 25 minutos (Hafting, 1998). Al culminar todo el proceso, se llevó al laboratorio de agua, suelo medio ambiente y fertirriego del Departamento de Recursos Hídricos (DRH) de la Universidad Nacional Agraria La Molina para analizar la cantidad de nutrientes que incluye el agua de mar (**Anexo 14**).

Tabla 6: Resultados del análisis Físico Químico de agua de mar filtrada proveniente de Paracas, Pisco.

Parámetro	Agua de mar
Alcalinidad total, mgCaCO ₃ /L	207.83
Nitratos, mg/L	0.0
DQO, mg O ₂ /L	464.65
Fosforo soluble, mg P/L	0.0
Nitrógeno, N-NH ₃ /L	0.63
Bicarbonato, mg HCO ₃ /L	253.56

La Tabla 6 muestra el análisis del agua de mar indicando la ausencia de macronutrientes como nitratos y fosfato (**0.0** mg /L, respectivamente), siendo estos indispensables para la absorción del nutriente limitante como el nitrato que genera biomasa algal (Harrison y Hurd, 2001); como también, la absorción de fosfato que se demostró en diferentes especies de *Porphyra* de Long Island Sound (EE. UU), además de las diferentes concentraciones, según (Pedersen *et al.*, 2004).

4.3. Parámetros físicos para el Crecimiento de Conchocelis

Los parámetros físicos para el desarrollo inicial de la fase conchocelis de *P. columbina* se recomienda su incubación a 12°C-15°C, 40-60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{seg}^{-1}$ y Fotografiaperíodo 12:12 (horas luz: oscuridad) según Romo, 1995. Estas condiciones físicas permitieron efectuar estudios fisiológicos con diferentes nutrientes como se explicarán más adelante. Sin embargo; la producción máxima de biomasa de conchocelis según Chaim, 2018 fue a 20°C, con una irradiancia de 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ y Fotografiaperíodo neutro de (12 luz:12 oscuridad) con un crecimiento de 3.43 a 6.17% área día⁻¹ en México, así mismo en nuestro país vecino Chile, específicamente en Hueihue, se ha cultivado a una temperatura de 15± 1°C, salinidad de 20 a 30 PSU e irradiación de 20 a 70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pero con el mismo Fotografiaperíodo (12 luz:12 oscuridad) según (Héctor Romo *et al.*, 2005). Siendo las condiciones más semejantes de Perú a la de Chile como se expresa en la Figura 8 temperaturas mínimas, el presente trabajo tuvo como resultados (Tabla 7) en condiciones controladas de laboratorio.

Tabla 7: Condiciones físicas para el desarrollo inicial de la fase conchocelis, *Porphyra* sp.

Tratamientos	T° (°C)	$\mu\text{mol m}^{-2}$ seg ⁻¹	Salinidad (PSU)	Conduc tividad (mS)	TDS (ppt)	Soluciones
25% - 1	15.01	16.1	36	55.887	25.9	Solución Hidropónica AyB La Molina
25% - 2	15.02	16.2	36.2	56.197	26.6	
25% - 3	15.03	15.7	36.1	56.042	27.7	
50% - 1	15.02	15.8	36.01	55.902	25.2	
50% - 2	15.02	16.4	36.05	55.965	25.2	
50% - 3	15.03	15.7	36.04	55.949	25.1	
100% - 1	15.02	15.8	36.08	56.011	26.5	
100% - 2	15.04	15.8	36.03	55.934	26.6	
100% - 3	15.03	15.9	36.02	55.918	25.6	
25% - 1	15.02	15.7	36.01	55.874	27.1	
25% - 2	15.03	15.8	36.04	55.921	27.8	
25% - 3	15.02	16.1	36.05	55.936	27.2	
50% - 1	15.03	16.2	36.05	55.936	26.8	
50% - 2	15.02	15.7	36.06	55.952	26.7	
50% - 3	15.03	15.8	36.05	55.936	24.9	
100% - 1	15.04	15.9	36.04	55.921	25.3	
100% - 2	15.03	15.8	36.01	55.874	26.1	
100% - 3	15.03	16.2	36.03	55.905	24.8	
blanco - 1	15.01	16.1	36.04	55.908	25.1	Control
blanco - 2	15.02	15.9	36.06	55.939	26	
blanco - 3	15.04	16.0	36.07	55.954	26.1	
DesviaStand	0.009	0.21	0.042	0.070	0.920	
Promedio	15.03	15.93	36.05	55.95	26.11	

Se tiene que tomar en cuenta que los principales problemas del cultivo intensivo en tanques al aire libre o cerrado, son las variables físicas que incluyen la estructura del sistema de cultivo, las características de agua de mar, la estructura del sistema; cabe destacar que, la salinidad, características de la luz y la temperatura de aclimatación de 15°C durante todos días de experimentación (Carmona *et al.*, 2006) influyen en la composición bioquímica, el estado fisiológico y estructura. Por otro lado, de igual relevancia son las variables biológicas incluyen la densidad de algas, la competencia de epífitas, pastaje por herbívoros o la contaminación bacteriana (Freidlander y Levy, 1995).

4.4. Absorción de Nitrato mM

Las macroalgas tienen la capacidad de utilizar, absorber y metabolizar rápidamente diferentes formas de nitrógeno inorgánico, principalmente nitrato y amonio, dependiendo de su disponibilidad. Sin embargo, la presencia de estos compuestos nitrogenados pueden ser tóxicos o inhibidores para algunas algas marinas en altas concentraciones (Lobban y

Harrison, 1994). Por esa razón, en el presente trabajo (**Anexo 2; 2.4**) se analizarán sólo la tasa de absorción de nitrato (NO_3^-) con tratamientos de diferentes porcentajes que va desde 0 (control), 25, 50 y 100 por ciento; cabe mencionar que este último porcentaje es lo que se usó por el manual de producción “Luche” (Romo *et al.*, 2005). Así mismo, se puede evidenciar en la Figura 10, los resultados de absorción de *Nitrato en mM* en el periodo de crecimiento exponencial. De aquí en adelante el fertilizante Bayfolan® tendrá la abreviatura “Bay” y la solución hidropónica A y B La Molina, será “AyB”.

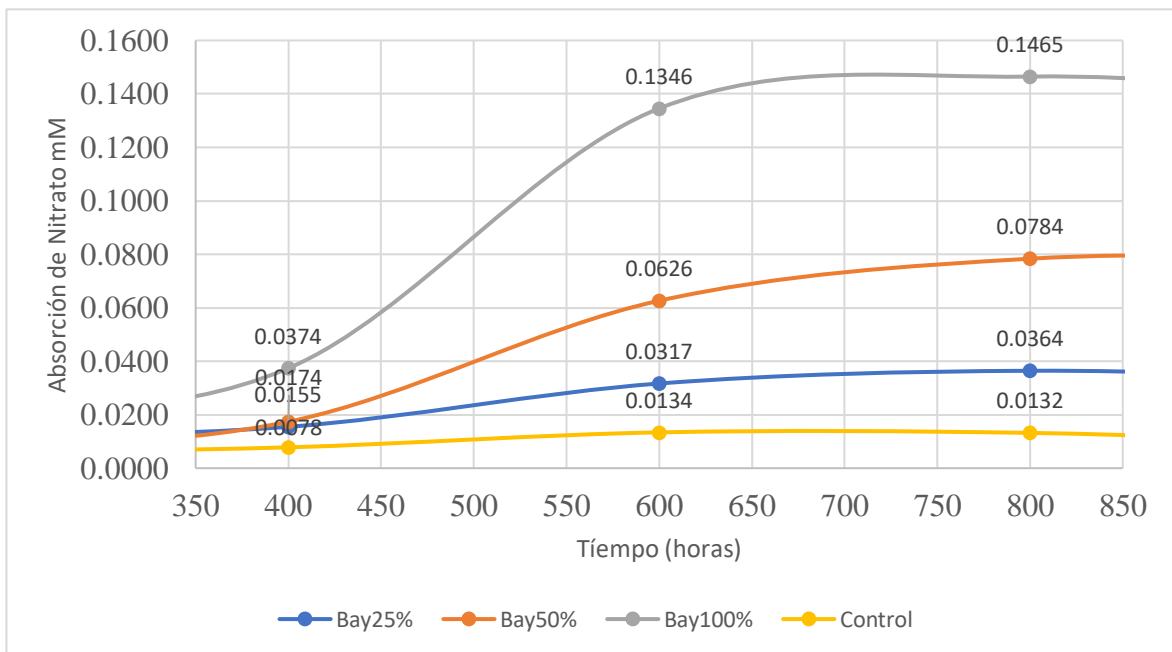


Figura 10. Absorción de Nitrato en *mM* de Bayfolan® vs tiempo

Las absorciones de nutrientes varían con factores físicos, químicos y biológicos. En particular, la luz y la temperatura que influyen en las tasas de absorción de nutrientes (Harrison y Hurd, 2001). En el experimento se trabajó con una temperatura promedio de 15.03°C y Fotografíanes $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de 15.93 (Tabla 7). Estas dos variables influyen en las tasas de absorción de nutrientes. La absorción de nitrato (NO_3^-) por parte de las algas, depende de la luz (periodos), mientras que el amonio (NH_4^+) puede ser menos dependiente de la luz (Lobban y Harrison, 2004).

En la Figura 10 se observa la absorción del nitrato *mM* por conchocelis en un periodo de 400 horas a 800 horas, luego comienza la meseta decreciente. Las diferentes concentraciones de Bay al 100%, 50% y 25% fueron 0.165, 0.083 y 0.041 de nitrato en *mM* respectivamente. Según (Romo *et al.*, 2005) para el cultivo en invernadero de conchocelis se adiciona el nutriente el abono agrícola Bayfolan® a una cantidad de 0.1 ml por litro de agua de mar.

Cabe resaltar que, en el presente trabajo se centró en el seguimiento del nitrato en un tiempo de 1600 horas con la concentración de stock de 41 g/L de nitrato (NO_3^- -N), 47 g/L de Nitrógeno Amoniacal (NH_4^+ -N) en Bayfolan® (**Anexo 12**).

Además, se cultivó *in vitro* con frascos de 500ml con una concentración inicial de 0.165 mM del volumen recomendado (Romo *et al.*, 2005). Es importante recordar también que la concentración de nutrientes en el agua de mar está determinada por el equilibrio entre la tasa de suministro de nutrientes y la demanda de esta; y si aquella concentración de nutrientes es muy baja en el agua de mar no se indicará si las algas están limitadas, moderada o severamente (Harrison y Hurd, 2001). Por esa razón, se realizó el análisis de nitrato en el agua de mar teniendo como resultado 0 mg/L (**Anexo 24**), el dato inicial sirve como referencia la concentración inicial para evitar la sobre saturación en el diseño experimental y generación de ecotoxicidad en conchocelis.

El agua de mar en regiones templadas, sus concentraciones suelen ser máximas durante el otoño e invierno y mínimas entre finales de primavera y finales de verano como los trabajos en el NE del Pacífico donde las concentraciones de nitrógeno inorgánico (nitrato, nitrito y amonio) fueron de 30-40 μM (Harrison y Hurd, 2001). Cabe recalcar, que los estudios de *Porphyra* (estadios gametofíticos) tienen una área o talos de superficie extremadamente alta a relación del volumen, siendo esta alga excelente fijadoras de nitrógeno como se reportan en los experimentos (Kang *et al.*, 2014) con una concentración de nutrientes de 0.5 μM de nitrato menores a nuestro experimento. También, se reporta la absorción o desorción del nitrato con concentraciones de 25, 75, 150 y 300 μM para estudios de biorremediación con los talos de *Porphyra* (Carmona *et al.*, 2006).

En la Figura 10, se puede observar que los tratamientos de 25% (0.04 mM), 50% (0.08 mM), 100% (0.15 mM) y el control 0% (0.01 mM) presentan una hipérbola rectangular. La ecuación que describe esta curva se conoce como la ecuación de Michaelis Menten, $V = V_{\text{máx}} (S / (K_s + S))$; donde, "S" es la concentración del nutriente, "V_{máx}" es la tasa de absorción máxima, "K_s" es el valor de media saturación y "α" que significa la pendiente inicial de la hipérbola rectangular **V vs S**; sin embargo, estas variables en *Porphyra p.* como K_s no se han registrado (Thomas & Harrison 1985), complicando más aún en especies no registradas y sobre todo en la asimilación de nutrientes en su estado microscópico, conchocelis.

Según (Harrison y Hurd, 2001) la absorción controlada internamente del nutriente está regulada por la asimilación de nitrato a amonio donde el paso de limitación de la velocidad es la conversión de nitrato a nitrito por la enzima nitrato reductasa o, en el caso del amonio, la conversión de NH_4^+ a aminoácidos. Esto mencionado ocurre dentro de conchocelis por la cantidad de nitrógeno limitado en el experimento; sin embargo, se dio una mayor cantidad de ramilletes (Romo *et al.*, 2005) por mm^2 del bivalvo; esto debido, a que la fórmula de Bayfolan® presenta la hormona de crecimiento ácido 3-indol acético al 0.00024 % w/v, donde se evidenció mayor cobertura de **63.09%** de conchocelis en el bivalvo a pesar de que el nitrato es limitado, mas no, diámetro de crecimiento, este crecimiento es común cuando se agregar está hormona ácido 3-indol acético en microalgas (Portero, 2020).

Siendo esta la razón, por la cual conchocelis pueda que almacene el nitrato del medio en su vacuola en el tiempo 800 horas hasta las 1200 horas o más, esto debido que muchas algas puedan almacenar su Nitrógeno para permitirle crecer a tasas máximas durante varios días sin esta (Fujita, 1985).

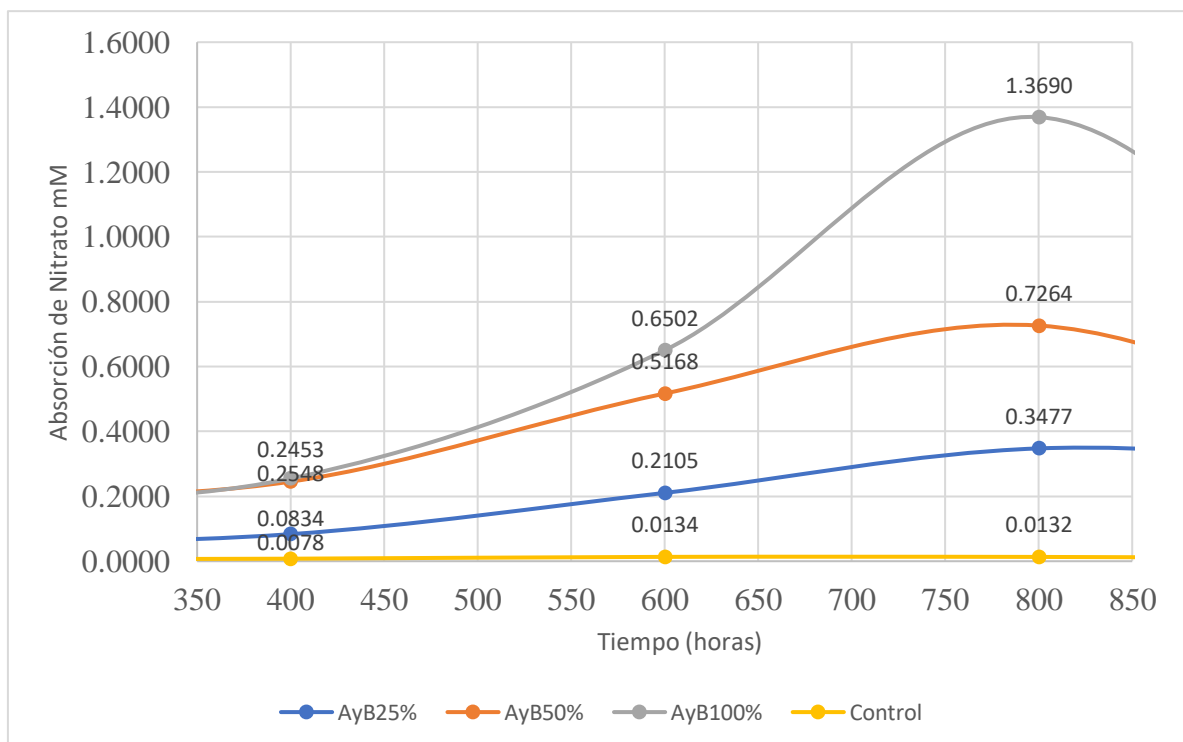


Figura 11. Absorción de Nitrato *mM* vs tiempo en AyB

Por otro lado, la solución AyB al 100, 50 y 25 por ciento; fueron 1.37, 0.73 y 0.35 *mM* de nitrato respectivamente, siendo estos los resultados con promedios más altos a diferencia del control que tiene 0.01 *mM* de nitrato. Las concentraciones de absorción de AyB es mayor que en Bay de 100% y 50% en 8.1 veces más altas en las 200 horas de absorción; sin

embargo, el de 25% fue 7.7 veces mayor. Estos resultados son mayores que los que reporta (Pedersen *et al.*, 2004) donde reportan que HMC con 30 μM de nitrato fue 7 veces mayor a 15°C que LMC con 3 μM de nitrato en *Porphyra s.*

4.5. Absorción de Fosfato mM

Según la concentración usada por (Romo *et al.*, 2005) con el fertilizante líquido Bayfolan® tiene una concentración inicial de 0.03 mM de Fosfato, la cual fue añadida en 16 recambios de medio enriquecido en toda la experimentación que tuvo un total de 1600 horas, como se puede apreciar en el (Anexo 4.4) a diferentes tiempos de absorción de Fosfato; sin embargo, se analizó en el intervalo de 400 a 1000 horas. Comenzando por el control que va desde un mínimo 400 hasta las 600 horas, lo cual presenta una absorción máxima promedio de **0.0059** mM de fosfato de manera natural. Asimismo, los resultados de los tratamientos de Bay al 100, 50 y 25 por ciento; presenta como máxima absorción promedio de **0.0312**, **0.0149** y **0.0073** mM respectivamente, pero en diferentes tiempos.

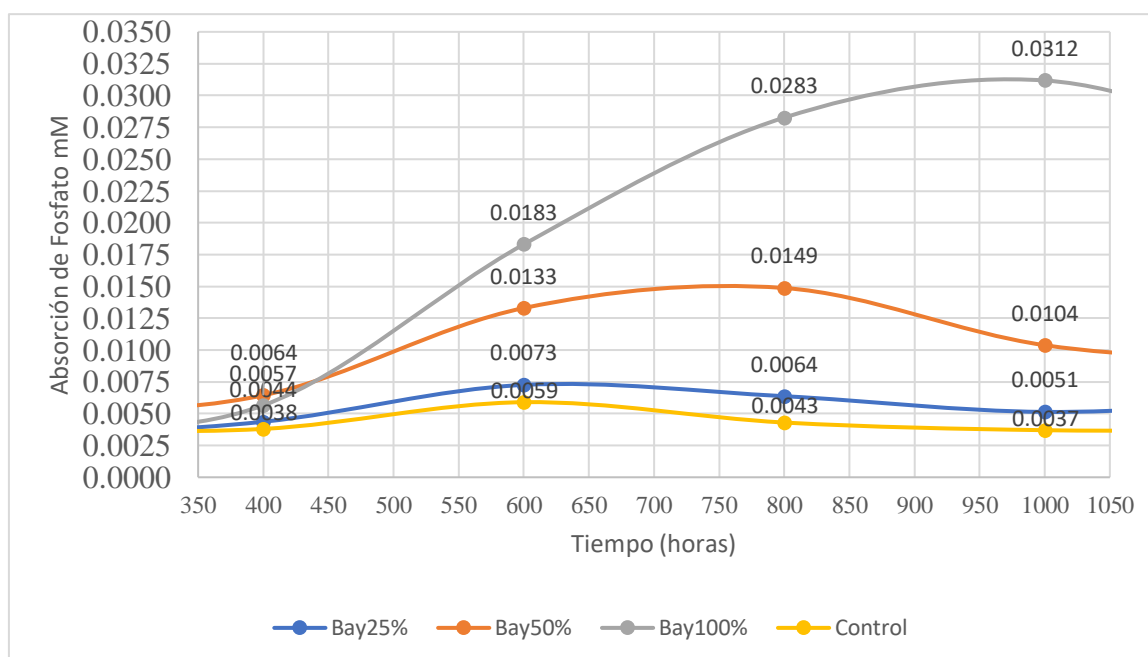


Figura 12. Absorción de Fosfato mM vs Tiempo en Bayfolan®

En la figura anterior se puede apreciar a los tratamientos con Bay de 100, 50, 25 y 0 por ciento, que tuvieron los tiempos de máxima absorción con 1000, 800 y 600 horas, respectivamente. Es importante mencionar que, el fósforo es generalmente más limitante que el nitrógeno para las macroalgas como lo menciona (Lapointe, 1987; Lapointe *et al.* 1992).

Así mismo, el crecimiento de *Porphyra* es estimulado por concentraciones de hasta 0.320 mM, pero es inhibido por una concentración de 1,6 mM que es tóxica (DeBoer, 1981). Sin embargo, en el tratamiento de Bay al 100 por ciento tiene un registro promedio de **0.0312 mM**, siendo 10 veces menor que lo experimentado por DeBoer, 1981; además, dicho registro presenta más que la concentración inicial que se da en el medio de cultivo enriquecido por Bayfolan® (**anexo 11**) también llamado absorción negativa la cual el fosfato parece ser liberado al medio (Pedersen *et al.*, 2004) o posiblemente se deba a que el fosfato inorgánico almacenados en las vacuolas de conchocelis pueda filtrarse fuera de la célula y reaparecer como fosfato externo (Lobban & Harrison, 2004) y así reportar mayor presencia de fosfato absorbido. Así mismo, el tiempo que resta del experimento comenzó a disminuir su absorción, presumiendo que pueda ser por la polifosfato intracelular que actúa como un inhibidor no competitivo de la captación de fosfato en cultivos de fosfato limitados en algas (Rhee, 1974). Cabe resaltar, que no puede haber una inhibición por crecimiento de conchocelis porque no presenta correlación de Pearson, 0.12, entre crecimiento y absorción de fosfato (**anexo 10**) en presente experimento.

Se han realizado pocos estudios sobre la cinética de absorción de fósforo en las algas marinas, a pesar del hecho de que las concentraciones de fósforo con frecuencia están cerca del límite de detección cuando se agota el nitrógeno del agua de mar; además, estudios preliminares indican que el fósforo es absorbido activamente por *Porphyra* (Epp – ley 1958),

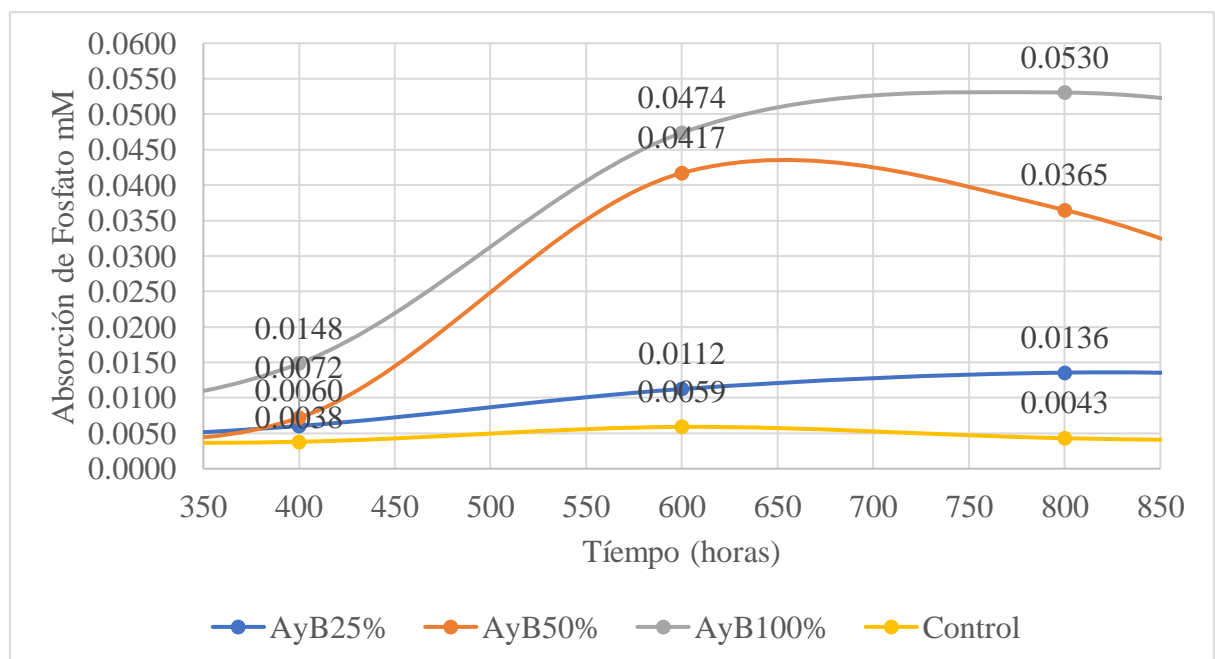


Figura 13. Absorción de Fosfato mM y Tiempo en AyB

y se ha examinado la cinética de saturación de otra alga roja *Agardhiella subulata*, produciendo una V_{max} de $0.47 \text{ umol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y una K_s de 0.4 uM (DeBoer 1981).

Por otro lado, la solución hidropónica La Molina evidencia una concentración 10 veces mayor al de Bayfolan® (Bay) con una concentración inicial de 0.0302 mM , siendo este dato muy cerca a los 0.0363 mM para el cultivo de conchocelis que se cultivó en medio como f/2 enriquecido según (Hafting, 1998).

Usando un medio comercial presentó una máxima absorción en los tratamientos de 100, 50, 25 y cero por ciento con 0.0530 , 0.0417 , 0.0136 y $0.0059 \text{ de fosfato mM}$ respectivamente. Los tratamientos presentan diferentes tiempos de absorción como por ejemplo 100 y 25 por ciento, ya que presentan su máxima absorción en las 1000 horas, sin embargo, el tratamiento de 50 y cero por ciento están en las 600 horas.

Otros estudios en diferentes especies *Porphyra purpurea*, *P. rosengurtii*, *P. leucosticta* halotipo y tipo A, que también han realizado la experimentación a 15°C han tenido diferentes tratamientos con diferentes rangos mínimo de 0.5 micromol y máximo 3.0 micromol de fosfatos para el crecimiento de biomasa de *Porphyra* en su estado Gametofítica (Pedersen *et al.*, 2004) a diferencia de nuestro experimento esporofítico. Por otro lado, es importante recalcar que la experimentación en la fase Gametofítica tiene un tiempo de absorción de 30 a 60 horas; sin embargo, en la etapa esporofítica se tiene que esperar hasta dos a tres meses de crecimiento de conchocelis (Romo *et al.*, 2005).

4.6. Área (en mm^2) de Crecimiento de *Porphyra* sp.

Se ha realizado un monitoreo del crecimiento del filamento de conchocelis con el microscopio Trinocular iScope EuroMex más la cámara digital calibrada para tomar las Fotografías de crecimiento de los filamentos (Anexos 13, Fotografía 16) desde las 10 horas luego del asentamiento hasta las 900 horas, ya que la cámara no pudo evidenciar más filamentos como también se reporta en el método de Romo y Paula (1995) descrito anteriormente por Matamala *et al.* (1985) y Romo y Navarrete (1988) donde el crecimiento de conchocelis se registrará semanalmente, como la frecuencia relativa de filamentos que atraviesan el diámetro ocular del microscopio.

Tabla 8: Resultados del asentamiento y la germinación en la valva

	Tratamientos	Densidad de Germinación	% Germinación	Cobertura de conchocelis (mm ²)	
Solución hidropónica A y B La Molina	25% -1	0.0421 ± 0.0028	0.00014 ± 2.148E-05	18.82 ± 1.299	
	25% -2	0.0397 ± 0.0028	0.00014 ± 2.1481E-05	16.23 ± 1.299	
	25% -3	0.0453 ± 0.0028	0.00017 ± 2.148E-05	17.71 ± 1.299	
	50% -1	0.1602 ± 0.0123	0.00061 ± 2.208E-05	25.65 ± 3.906	
	50% -2	0.1357 ± 0.0123	0.00059 ± 2.208E-05	25.78 ± 3.906	
	50% -3	0.1506 ± 0.0123	0.0006 ± 2.208E-05	32.48 ± 3.906	
	100% -1	0.2425 ± 0.0159	0.0009552 ± 8.024E-05	48.84 ± 5.109	
	100% -2	0.2398 ± 0.0159	0.0008 ± 8.024E-05	45.48 ± 5.109	
	100% -3	0.2685 ± 0.0159	0.0010 ± 8.024E-05	54.93 ± 5.109	
	Bayfolan®	25% -1	0.1027 ± 0.0045	0.0003 ± 4.46E-05	15.71 ± 1.446
		25% -2	0.0998 ± 0.0045	0.0003 ± 4.46E-05	16.25 ± 1.446
		25% -3	0.1086 ± 0.0045	0.0004 ± 4.46E-05	13.52 ± 1.446
50% -1		0.4134 ± 0.0310	0.0020 ± 0.00024	43.95 ± 4.516	
50% -2		0.4431 ± 0.0310	0.001828 ± 0.00024	52.85 ± 4.516	
50% -3		0.3810 ± 0.0310	0.0015648 ± 0.00024	49.74 ± 4.516	
100% -1		0.7710 ± 0.0879	0.0027 ± 9.64E-05	71.56 ± 7.804	
100% -2		0.6429 ± 0.0879	0.0026 ± 9.64E-05	61.52 ± 7.804	
100% -3		0.6027 ± 0.0879	0.0025 ± 9.64E-05	56.19 ± 7.804	
Control		Control -1	0.0108 ± 0.0019	0.00006 ± 0.0009	1.19 ± 0.2248
	Control -2	0.0085 ± 0.0019	0.00004 ± 0.0009	0.89 ± 0.2248	
	Control -3	0.0069 ± 0.0019	0.00003 ± 0.0009	0.75 ± 0.2248	

La cantidad inicial de cigotospora fue de 125 millones por mililitro la cuál podemos evidenciar un porcentaje de germinación hasta las 1350 horas con un mínimo de 0.00003 en el control y con un máximo promedio de 0.0027 en el tratamiento de Bayfolan®, trayendo consigo la cobertura de conchocelis en 0.75 ± 0.2248 y 71.56 ± 7.804 , respectivamente.

Estas grandes diferencias de cobertura y diferentes áreas desarrolladas por los filamentos (Anexo 6.4) sigue siendo un reto para el reconocimiento de las especies, debido a su alta plasticidad fenotípica y la relativa escasez de caracteres (Stiller y Waaland 1993; Lindstrom y Fredericq 2003; Jones *et al.* 2004). Además de los estudios moleculares p. Ej., Lindstrom & Cole 1992, Lindstrom 1993, Stiller & Waaland 1993; 1996, Oliveira *et al.* 1995, Brodie *et al.* 1996; 1998; 2008, Woolcott & King 1998, Broom *et al.* 1999; 2002, Lindstrom & Fredericq 2003, Milstein & de Oliveira 2005, Nelson *et al.* 2006, Niwa *et al.* 2005b, Niwa & Aruga 2006), para tener más caracteres para distinguir especies en la fase conchocelis de varias cepas de cultivo de *Porphyra* de Nueva Zelanda se logró obtener diferencias en sus conchocelis, cabe resaltar que también se estudiaron en la costa peruana el género *Porphyra* sp es el género con mayor diversidad del orden Bangiales con 68 especies aceptadas taxonómicamente y está presente en todos los océanos del mundo (Márquez, 2019).

Con un p-value < 0.05 el análisis de varianza determina que si existe diferencias significativas entre los diferentes tratamientos con el producto de Bayer Bayfolan® (Anexo 6). Los valores obtenidos oscilan de 0.1081 a 1.5442 mm². En la figura 14 se ha tomado los valores de una curva exponencial para crecimiento en los tiempos de 400 a 1000 horas.

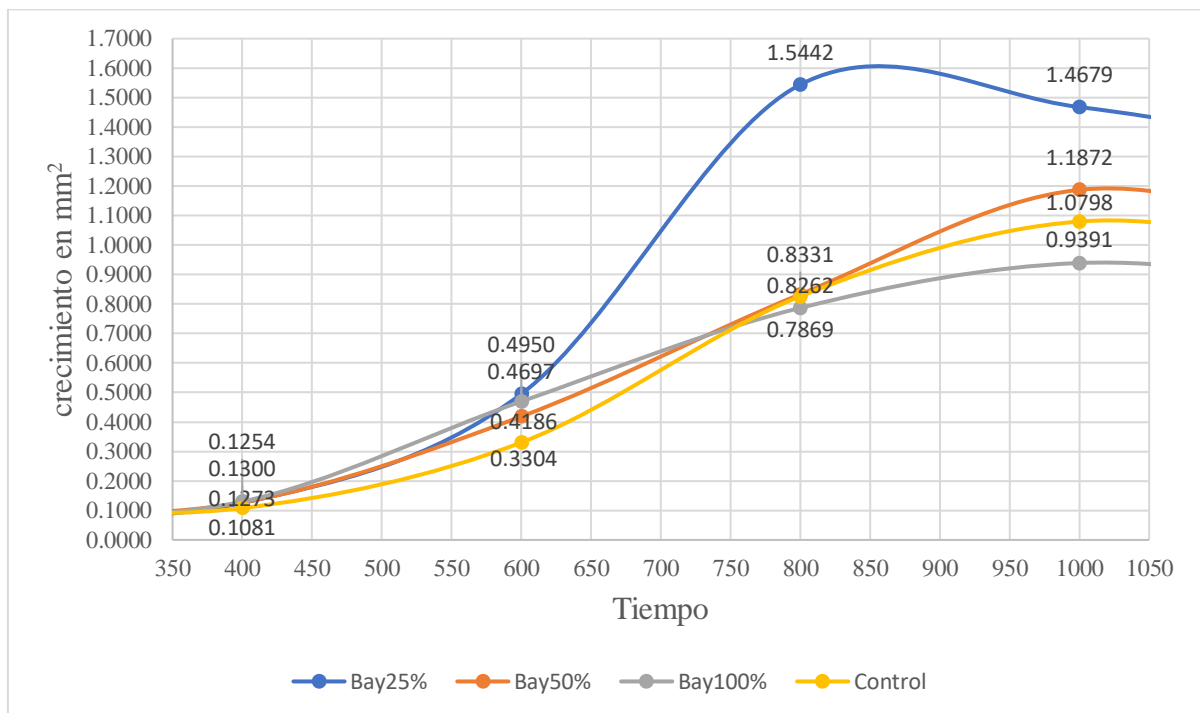


Figura 14. Crecimiento de conchocelis en mm² en la superficie de la concha con la solución de Bayfolan®.

Se podría evidenciar que los resultados de Bay25% presenta mayor crecimiento de conchocelis con un 1.5442 mm² a un tiempo 800 horas presentando diferencia significativa

de los demás tratamientos a pesar de tener bajo el porcentaje (25 por ciento) de la concentración que se añadió para el cultivo conchocelis trabajado por (Romo *et al.*, 2005), así mismo tuvo una menor cobertura promedio de 15.16 (ver Tabla 8). Sin embargo, los tratamientos de Bay de 50, 100 por ciento y control, que tuvieron su máximo crecimiento a las 1000 horas, tuvieron el área de crecimiento en 1.187, 0.939 y 1.0798 mm² y también reportaron una cobertura promedio de 48.84, 63.09 y 0.943, respectivamente.

Por otro lado, los valores señalados anteriormente no necesariamente indica que su tasa de crecimiento sea lo idóneo, ya que los valores en el experimento con Bayfolan difiere con el trabajo de crecimiento en hojas de *Porphyra* y. a 15°C y con el mismo Fotograffiaperiodo 12:12 (Hafting, 1998).

Este crecimiento de los filamentos de conchocelis para generar mayor cobertura posiblemente se deba a la hormona (Anexo12) Ácido Indol Acético (AIA) que desató cierto “crecimiento acelerado” como se da en las algas para obtener biomasa (Portero, 2020); sin embargo, también se pudo observar el diámetro de los filamentos y son de menor radio que la solución que no tuvo hormona, solución hidropónica A y B La Molina (**Fotografías 21, 22 y 23**).

Tabla 9: Crecimiento Específico de los filamentos de *Porphyra* en su fase conchocelis, crecimiento exponencial

Tratamientos	μ de Bay	μ de AyB
25%	0.0875	0.2319
50%	0.0093	0.0916
100%	-0.0339	0.1000
0%	-0.0046	

Ambos tratamientos con 25% han desarrollado mayor tasa de crecimiento por hora; sin embargo, tienen menor cobertura de crecimiento de los filamentos sobre la valva. Así mismo, la tasa de crecimiento al 50% de Bay es aproximadamente diez veces menos que la solución hidropónica. Sin embargo, en el tratamiento de los 100% la tasa de crecimiento de Bay ha presentado decrecimiento, siendo este el de menor diámetro a diferencia de los demás tratamientos. Esta medida también es reportada en la reducción de tasa de crecimiento llamado desintegración (Hafting, 1998). Por otro lado, AyB tuvo una tasa más lenta que la de 25%.

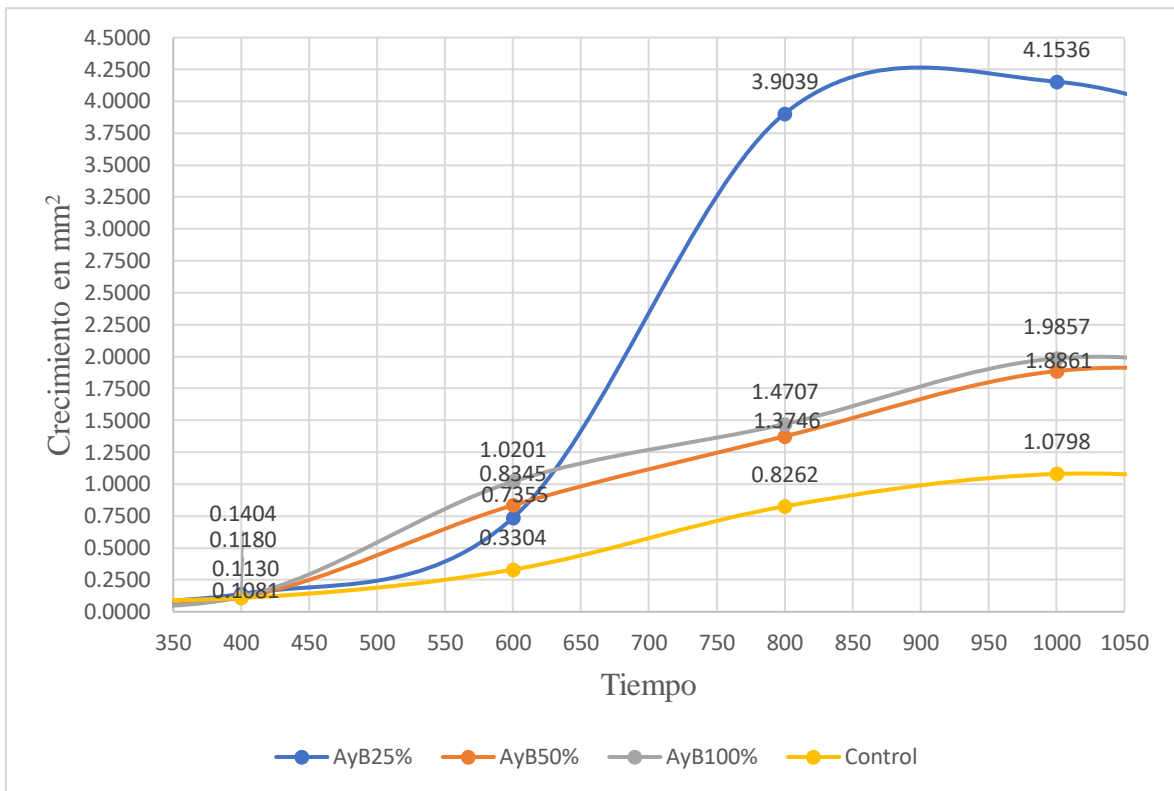


Figura 15. Crecimiento de conchocelis en mm^2 en la superficie de la concha con la solución de AyB.

Con un $p\text{-value} < 0.05$ el análisis de varianza determina que si existe diferencias significativas entre los diferentes tratamientos con el fertilizante Solución hidropónica AyB La Molina[®] (Anexo 6). Donde la solución del 25 por ciento tuvo un mayor crecimiento de 4.1536 mm^2 y un mínimo de 0.1404 mm^2 ; por otro lado, se puede apreciar que las demás gráficas de 50, 100 y cero por ciento, no presenta la curva exponencial, pero se asume que si para poder reemplazar a la fórmula, siendo sus valores 1.886, 1.957 y 1.0798 mm^2 y sus mínimos 0.1130, 0.1180 y 0.1081 mm^2 , respectivamente.

Estas áreas fueron halladas con los radios tomados por cámara del microscopio EUROMEX y reemplazas a la fórmula de crecimiento exponencial (Pereira & Sousa-Pinto, 2002)

V. CONCLUSIONES

- Se determinó la correlación del nitrato asimilado con el crecimiento de Conchocelis, *Porphyra* sp., por otro lado, no presenta correlación con el fosfato. Además, en ambas soluciones Bayfolan y Sol. AyB La Molina, el tratamiento con 25% presentó mayor promedio de crecimiento (en mm²) en el periodo de 800 horas, por esa razón, la concentración óptima para hacer cultivos en hatchery será para crecimiento asentada (25%) o cantidad asentada (100%) de Conchocelis por superficie de sustrato calcáreo.
- Se determinó los efectos de *Porphyra* sp. en su fase conchocelis, logrando obtener un mayor diámetro de crecimiento y área de conchocelis con la solución hidropónica La Molina A y B, con un máximo de 4.15 mm² a diferencia del fertilizante Bayfolan® que presentó menor diámetro y área a la vez de conchocelis por 1.54 mm², también un decrecimiento con un coeficiente negativo -0.0339; sin embargo, presentó mayor porcentaje de cobertura 71.56 más que todos los tratamientos experimentados sobre la concha del bivalvo, *Argopecten purpuratus*.

VI. RECOMENDACIONES

- Para continuar con más investigaciones de crecimiento de Conchocelis de *Porphyra* y *Pyropia* a nivel de laboratorio se deben de trabajar de las áreas que han sido mapeadas en la costa peruana. Lo cual permitirá tener mayor certeza de la posible especie que ha sido determinada en nuestra región.
- Para realizar evaluaciones anuales es recomendable que la colecta sea específicamente de las mismas rocas donde se ha desarrollado las semillas de *Porphyra*, así como también el agua de mar en esas playas para realizar dicho análisis.
- Para el manejo y cultivo de conchocelis *in vitro* se recomienda el recambio del agua semanalmente con medio nutritivo esterilizada y monitorear constantemente para evitar contaminación cruzada por cualquier agente externo.
- Determinar el área superficial completa del sustrato para determinar la eficiencia del asentamiento en el desarrollo de conchocelis por cada cm^2 .
- Desarrollar el cultivo *in vitro* de *Porphyra* con diferentes nutrientes, hormonas de crecimiento para conocer más sobre la fisiología y genética para generación de conchosporangio.

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 (Serie B Botánica N° 29).
- Acleto, C. (1986). Algas marinas del Perú de importancia económica. Serie de divulgación N° 5 UNMSM. 2 ed. Lima, Perú, 107p.
- Acleto, C., & Zuñiga, R. (1998). Introducción a las algas. Editorial Escuela Nueva S.A. Lima, Perú, 383 p.
- Agardh, C.A. (1824). Synopsis Algarum. Scandinavie. Suecia, *Acta Universidad de Lunds*. 137.
- Andersen, R.A., Berges, F., Harrison, P.F., & Watanabe, M.M. (2005). Recipes for freshwater and seawater media. In: Andersen RA (Ed.) *Algal culturing techniques*. Elsevier Academic Press, 578 p.
- Aragón, B., Castillo, R., Zavala, J., Pastor, R., Castañeda, V., & Rujel, J. (2012). Estudios sobre macroalgas pardas en el sur del Perú. 2011-2015: Plan de capacitación. Informe IMARPE. Callao, Perú, 87 p.
- Arbaiza, S. (2019). proyecto “Desarrollo de un programa de producción de semilla, cultivo y procesamiento de la macroalga "cochayuyo" *Porphyra* spp. para la industria de panificación”. Convenio N° 137-INNOVATEPERU-IAPIP-2017
- Avila, 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.
- Blouin, N., Xiugeng, F., Peng, J., Yarish, C., & Brawley, S.H. (2007). Seeding nets with neutral spores of the red alga *Porphyra umbilicalis* (L.) Kützing for use in integrated multi-trophic aquaculture (IMTA). *Aquaculture*, 270(1–4), 77–91.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.03.002>
- Calderon, M. (2017). Filogenia molecular de algunas algas marinas rojas del Perú basada en análisis de ADN plastidial. Facultad de Ciencias Biológicas. (tesis de pre-grado, *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*). 275
- Candia, A., Lindstrom, S., & Reyes, E. (1999). *Porphyra* sp. (Bangiales, Rhodophyta): reproduction and life form. *Hydrobiologia*, 398/399, 115 – 119.

- Carmona, R., Kraemer, G.P., & Yarish, C. (2006). Exploring Northeast American and Asian species of *Porphyra* for use in an integrated finfish-algal aquaculture system. *Aquaculture*, 252(1), 54–65.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.11.049>
- Chaim, J. (2018). *Reproducción y Biomasa a partir de Gametófitos Congelados de Pyropia hallenbergii (Bangiales, Rhodophyta) de Punta Chivato, Baja California Sur, México*. Autónoma de Baja California Sur.
- 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
- Choi, J-S., Cho, J-Y., Jin, L-G., Jin, H-J., & Hong, Y-K. (2002). Procedures for the axenic isolation of conchocelis and monospores from the red seaweed *Porphyra yezoensis*. *Journal of Applied Phycology*, 14, 115 – 121
- Cian, R. (2014). *Aprovechamiento Integral del Alga Phorphyra Columbina. Procesos de Extracción de Ficocomponentes (Proteínas y Polisacáridos). Estudio de sus propiedades Bio y Tecno-Funcionales*. Universidad Nacional del Litoral.
- 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.
- Dai, J., Yang, Z., Liu, W., Bao, Z., Han B., Shen, S., & Zhou, L. (2004) Seedling production using enzymatically isolated thallus cells and its application in *Porphyra* cultivation. *Hydrobiologia*, 512, 127–131.
- Dlaza, T.S. (2010). Development in culture, ecophysiology and nutritional content of three South African *Porphyra* (Rhodophyta, Bangiales) species. s.l., UNIVERSITY OF CAPE TOWN. 1-184.
- 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, 242.
- 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, 200.
- 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* no 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
- Friedlander, M. & Levy, I. (1995). Cultivation of *Gracilaria* in outdoor tanks and ponds. *Journal of Applied Phycology* 7: 315-324.
- Gallardo, T. (2014). Marine algae: general aspects (biology, systematics, field and laboratory techniques). In: Pereira, L; Neto JM. eds. *Marine Algae: biodiversity, taxonomy, environmental assessment, and biotechnology*. USA, CRC Press. 1-67
- Gonzalez, A. (2018). *Image J: una herramienta indispensable para medir el mundo biológico*. October.
https://www.researchgate.net/publication/328253430_Image_J_una_herramienta_indispensable_para_medir_el_mundo_biologico
- 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. (2018). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 10 August 2018.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2021. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 29 August 2021.
- Hafting, J.T. (1998). strategies for growth management of *Porphyra yezoensis* (Ueda) blades in suspension cultures: a step towards land-based mariculture. In *Statistics* (Issue March).
- Hafting, J.T. (1999). Effect of tissue nitrogen and phosphorus quota on growth of *Porphyra yezoensis* blades in suspension cultures. *Hydrobiologia*, 398/399: 305 – 314
- Harrison, P.J., Parslow, J.S., & Conway, H.L. (1989). Determination of nutrient uptake kinetic parameters: a comparison of methods. *Marine Ecology Progress Series*, 52: 301-312.
- Harrison, P.J., & Hurd, C.L. (2001). Nutrient physiology of seaweeds: Application of concepts to aquaculture. *Cahiers de Biologie Marine*, 42(1-2), 71-82.

- 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), 281-289.
- 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. *Botanic* 19,117-131.
- Kang, Y.H., Kim, S., Lee, J.B., Chung, I.K., & Park, S.R. (2014). Nitrogen biofiltration capacities and photosynthetic activity of *Pyropia yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta): groundwork to validate its potential in integrated multi-trophic aquaculture (IMTA). *Journal of Applied Phycology*, 26(2), 947–955. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0214-1>
- Katz, S., Kizner, Z., Dubunsky, Z. & Friedlander, M. (2000). Response of *Porphyra* University of Cape Town from different biogeographic regions. New linearis (Rhodophyta) to environmental factors under controlled culture conditions. *Journal of Applied Phycology*, 12, 535 – 542.
- Krishnamurthy, V. (1969). The conchocelis phase of three species of *Porphyra* in culture. *Journal of Phycology* 5(1), 42-47.
- 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. (1994). *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge University Press.
- Lobban, C.S., & Harrison, P.J. (1997). *Seaweed ecology and physiology*. Nueva York. 381.
- Lobban, C.S., & Harrison, P.J. (2004). *Seaweed Ecology and Physiology*. In *The Physiological Ecology of Seaweeds: Vol. XXXIII* (Issue 2). <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- López-Vivas, J., Riosmena-Rodríguez, R., Jiménez-González, A., Pacheco-Ruiz, 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.
- MacFarlane, C.I. (1968). The cultivation of seaweeds in Japan and its possible application in the Atlantic Provinces of Canada. Industrial Development Service. *Department of Fisheries of Canada*. 96(1).
- Maggs, C.A., & Callow, M.E. (2002). Algal Spores. Nature Publishing Group. *Encyclopedia of Life Sciences*. 6(1).
- Márquez, D.A. (2019). Delimitación de especies de los géneros *Pyropia/Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) de la costa peruana en base a marcadores moleculares. s.l.,

Universidad Nacional Agraria la Molina. 84.

- McHugh, D.J. (2002). Perspectivas para la producción de algas marinas en los países en desarrollo: la industria de algas marinas. *FAO Circular de Pesca* N° 968. Roma. 30.
- McHugh, D.J. (2003). A guide to the seaweed industry. *FAO Fisheries Technical Paper* 441. Roma. 105.
- McLachlan, J. (1973). Growth media - marine. In: Stein JR (ed.), *Handbook of Phycological Methods*. Cambridge University Press, New York, 25–51.
- 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. 1. ed. USA. 81.
- Mohamed, S.; Hashim, S. & Rahman, H. (2012). Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends Food Sci. Technol.* 23, 83-96
- Mouritsen, O.G. (2013). Seaweeds: edible, available & sustainable. Trad. M. Johansen. *Hong Kong*. 304 p.
- Nam-Gil, K. (1999). Culture studies of *Porphyra dentata* and *P. pseudolinearis* (Bangiales, Rhodophyta), two dioecious species from Korea. *Hydrobiologia* 398(0),127-135.
- Nelson, W.A., Knight, G.A., & Hawkes, M.W. (1998). *Porphyra lilliputiana* sp. nov.(Bangiales, Rhodophyta): A diminutive New Zealand endemic with novel reproductive biology. *Phycological Research*, 46(1), 57-61.
- Orfanidis, S. (2001). Culture studies of *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta) from the Gulf of Thessaloniki, Greece. *Botanica Marina*, 44, 533 – 539
- Pariona, E., & Gil-Kodaka, P. (2011, June). Colonización de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) sobre sustratos calcáreos en Playa Mendieta, Reserva Nacional de Paracas. *Anales Científicos* 72(1), 19-26.
- Pedersen, A., Kraemer, G., & Yarish, C. (2004). The effects of temperature and nutrient concentrations on nitrate and phosphate uptake in different species of *Porphyra* from Long Island Sound (USA). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 312(2), 235–252. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2004.05.021>
- Pereira, R., & Sousa-Pinto, I. (2002). Field and culture studies of the life history of *Porphyra dioica* from Portugal. 43 (December 2004), 756–767.
- Pereira, R., Sousa-Pinto, I. & Yarish, C. (2004). Field and culture studies of the life history of *Porphyra dioica* (Bangiales, Rhodophyta) from Portugal. *Phycologia*. 43: 756-767
- Portero, M.A. (2020). Efecto del ácido indol 3-Acético (AIA) exógeno en presencia de luz azul y blanca en la productividad de biomasa de tres biotipos de *Chlorella* sp. en el alto andino ecuatoriano. In *Malaysian Palm Oil Council (MPOC)* (Vol. 21,

- Issue 1). <http://mpoc.org.my/malaysian-palm-oil-industry/>
- Purcell, A. (2015). Basic Biology: seaweed (en línea). Nueva Zelanda. Consultado 01 ago. 2017. Recuperado de <http://basicbiology.net/micro/microorganisms/protists/algae/seaweed/>
- Ramírez, D.R. (1993). Cultivo, adaptación morfológica y fisiopatología de macroalgas marinas de interés industrial.
- Redmond, S., Green, L., Yarish, C., Kim, J., & Neefus, C. (2014). New England Seaweed Culture Handbook: *Nursery Systems*. EE.UU. 92.
- Romo, H. & Paula, E. (1995). Métodos experimentales para el cultivo de *Porphyra*. In Alveal, K; Ferrario, ME; Oliveira, EC; Sar, E. eds. Manual de métodos ficológicos. Chile. *Universidad de Concepción*, 551-562
- Romo, H. (1995). *Manual de Metodos Ficologicos* (K. A. M. F. O. E. Sar (ed.); 1st ed.). Universidad de Concepción de Chile
- 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. *Instituto de Fomento Pesquero*. Chile. 32.
- Ruangchuay, R., & Notoya, M. (2003). Physiological Responses of Blade and Conchocelis of *Porphyra vietnamensis* Tanaka et Pham-Hoang Ho (Bangiales, Rhodophyta) from Thailand in Culture. *Algae*, 18(1), 21–28. <https://doi.org/10.4490/ALGAE.2003.18.1.021>
- 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. In: Andersen RA. eds. *Algal Culturing Techniques*. USA, *Elsevier Academic Press*. 219-237
- Stekoll, M.S., Lin, R., & Lindstrom, S.C. (1999). *Porphyra* cultivation in Alaska: conchocelis growth of three indigenous species. *Hydrobiologia* 398(0), 291-297.
- Stiller, J.W. & Waaland, J.R. 1993. Molecular Analysis reveals cryptic diversity in *Porphyra* (Rhodophyta). *Journal of Phycology* 17(1 993):506-517.
- Sutherland, J.E., Lindstrom, S.C., Nelson, W.A., Brodie, J., Lynch, M.D., Hwang, M.S., ... & Müller, K. M. (2011). A new look at an ancient order: generic revision of the Bangiales (Rhodophyta) 1. *Journal of phycology*, 47(5), 1131-1151. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01052.x>
- Távora, C.H. (1992). Morfología y reproducción de *Porphyra pseudolanceolata* Krishnamurthy (Bangiales, Rhodophyta) en la costa Peruana. *Revista Peruana de Biología* 4(1-2), 5-15
- Thomas, D.N. (2002). Seaweeds. *The Natural History Museum London*. 1 ed. 96.

- Thomas, T.E., Harrison, P.J. & Taylor, E.B. (1985). Nitrogen uptake and growth of the germlings and mature thalli of *Fucus distiehus*. *Mar. Biol.* 84:267-74.
- Uppalapati, S.R. & Fujita, Y. (2000). Red rot resistance in interspecific protoplast fusion product progeny of *Porphyra yezoensis* and *P. tenuipedalis* (Bangiales, Rhodophyta). *Phycological Research* 2000; 48, 281– 289.
- Vivanco, C., Álvarez, J.C., & Vodden, K. (2011). Extracción de algas en Pisco: Desafíos, oportunidades, adaptación y perspectivas futuras. *Industrial Data* 14(1),19-27.
- 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.
- West, J.A., & McBride, D.L. (1999). Long-term and diurnal carpospore discharge patterns in the Ceramiaceae, Rhodomelaceae and Delesseriaceae (Rhodophyta). *Hydrobiologia* 298/299,101-113.
- 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.
- Yoshida, T. (1997). Japanese marine algae: New combinations, new names and new species. *Phycological Research* 45,163-167.
- Yoon, H.S., Müller, K.M., Sheath, R.G., Ott, F.D. & Bhattacharya, D. 2006. Defining the major lineages of red algae (Rhodo-phyta). *J. Phycol.* 42:482–92.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Niveles de Nitrato mili Molar (NO₃) de Conchocelis

Niveles de Nitrato mili Molar (NO₃) de Conchocelis

		1	2	3	4	5	6	7	8
Solución hidropónica AyB la Molina	25% -1	0.0572	0.0857	0.2172	0.3215	0.2858	0.1203	0.0715	0.0579
	25% -2	0.0429	0.0929	0.1929	0.3501	0.3037	0.1108	0.0750	0.0357
	25% -3	0.0489	0.0715	0.2215	0.3715	0.2930	0.1329	0.0643	0.0643
	50% -1	0.1929	0.2144	0.5359	0.6931	0.3930	0.0369	0.0357	0.0214
	50% -2	0.1429	0.2358	0.5145	0.7360	0.4287	0.0517	0.0286	0.0572
	50% -3	0.2144	0.2858	0.5002	0.7502	0.2858	0.0886	0.0322	0.0389
	100% -1	0.1786	0.2144	0.6288	1.2861	0.5002	0.2215	0.1215	0.0357
	100% -2	0.1429	0.2644	0.7645	1.3576	0.5859	0.3323	0.1429	0.0715
	100% -3	0.1858	0.2858	0.5573	1.4633	0.4287	0.2658	0.0715	0.0643
Bayfolan®	25% -1	0.0086	0.0150	0.0329	0.0379	0.0350	0.0214	0.0171	0.0136
	25% -2	0.0107	0.0171	0.0314	0.0364	0.0314	0.0177	0.0157	0.0150
	25% -3	0.0136	0.0143	0.0307	0.0350	0.0329	0.0222	0.0150	0.0143
	50% -1	0.0071	0.0164	0.0643	0.0793	0.0772	0.0665	0.0357	0.0214
	50% -2	0.0055	0.0214	0.0579	0.0786	0.0807	0.0591	0.0243	0.0129
	50% -3	0.0045	0.0143	0.0657	0.0772	0.0786	0.0484	0.0222	0.0164
	100% -1	0.0143	0.0357	0.1358	0.1458	0.1350	0.1181	0.0336	0.0079
	100% -2	0.0193	0.0372	0.1286	0.1508	0.1415	0.0812	0.0286	0.0050
	100% -3	0.0171	0.0393	0.1393	0.1429	0.1400	0.0886	0.0214	0.0071
Control	Control -1	0.0050	0.0081	0.0145	0.0153	0.0081	0.0066	0.0065	0.0016
	Control -2	0.0066	0.0056	0.0113	0.0140	0.0105	0.0085	0.0048	0.0008
	Control -3	0.0048	0.0097	0.0145	0.0103	0.0084	0.0081	0.0052	0.0004

Anexo 2. Prueba Estadística de Nitrato mili Molar (NO₃) de Conchocelis

2.1. Análisis de Varianza

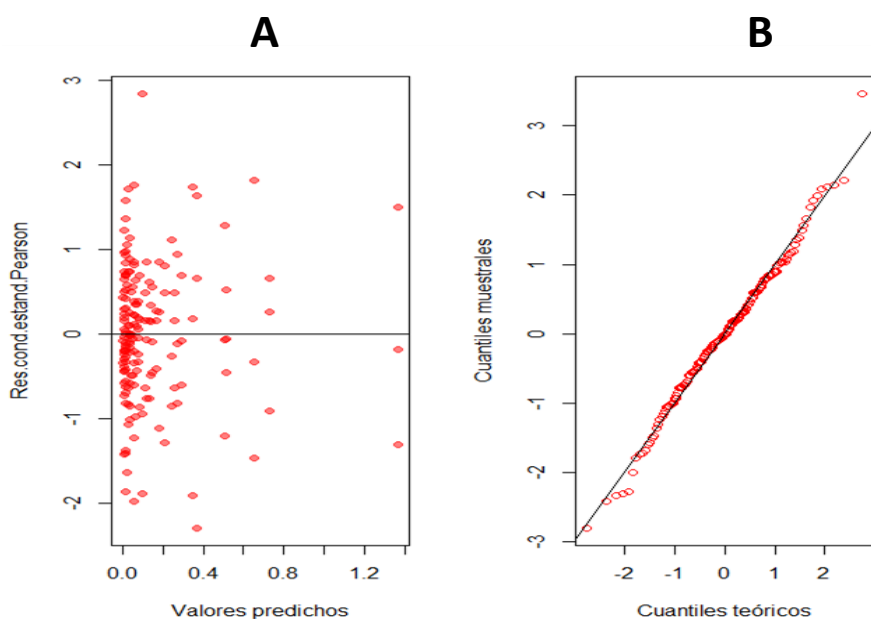
Pruebas de hipótesis tipo III - prueba					
	Source	numDF	denDF	F-value	p-value
1	horas	7	112	395.30	<0.0001
2	Tratamiento	6	112	1230.8	<0.0001
3	horas:Tratamiento	42	112	111.50	<0.0001

Existe interacción entre Tratamiento y horas (F=113.4988, p-value<0.05)

Para el nitrato se hizo el análisis de varianza; con ello se buscó analizar si los componentes interactuaban, en este caso el horas y nitrato, en la tabla de arriba se aprecia que el p valor resulta significativo, lo que quiere decir que hay interacción entre los factores. Sin embargo, para tener la validación final, se necesita que se cumplan ambos supuestos, en este caso la normalidad de varianzas y normalidad de errores.

2.2 Cumplimiento de los supuestos

En la letra B), el valor de r es mayor a 0.94, lo que indica que hay normalidad; mientras en letra A), la dispersión entre los residuos y los valores predichos, no forman un patrón o un cono, lo cual permite asumir que hay homogeneidad de varianzas. Por lo tanto, se puede concluir, que hay interacción entre los factores; o sea entre la Tiempo y Nitrato. Además, el modelo estadísticamente está bien, por lo que se pudo hacer la comparación Tukey.



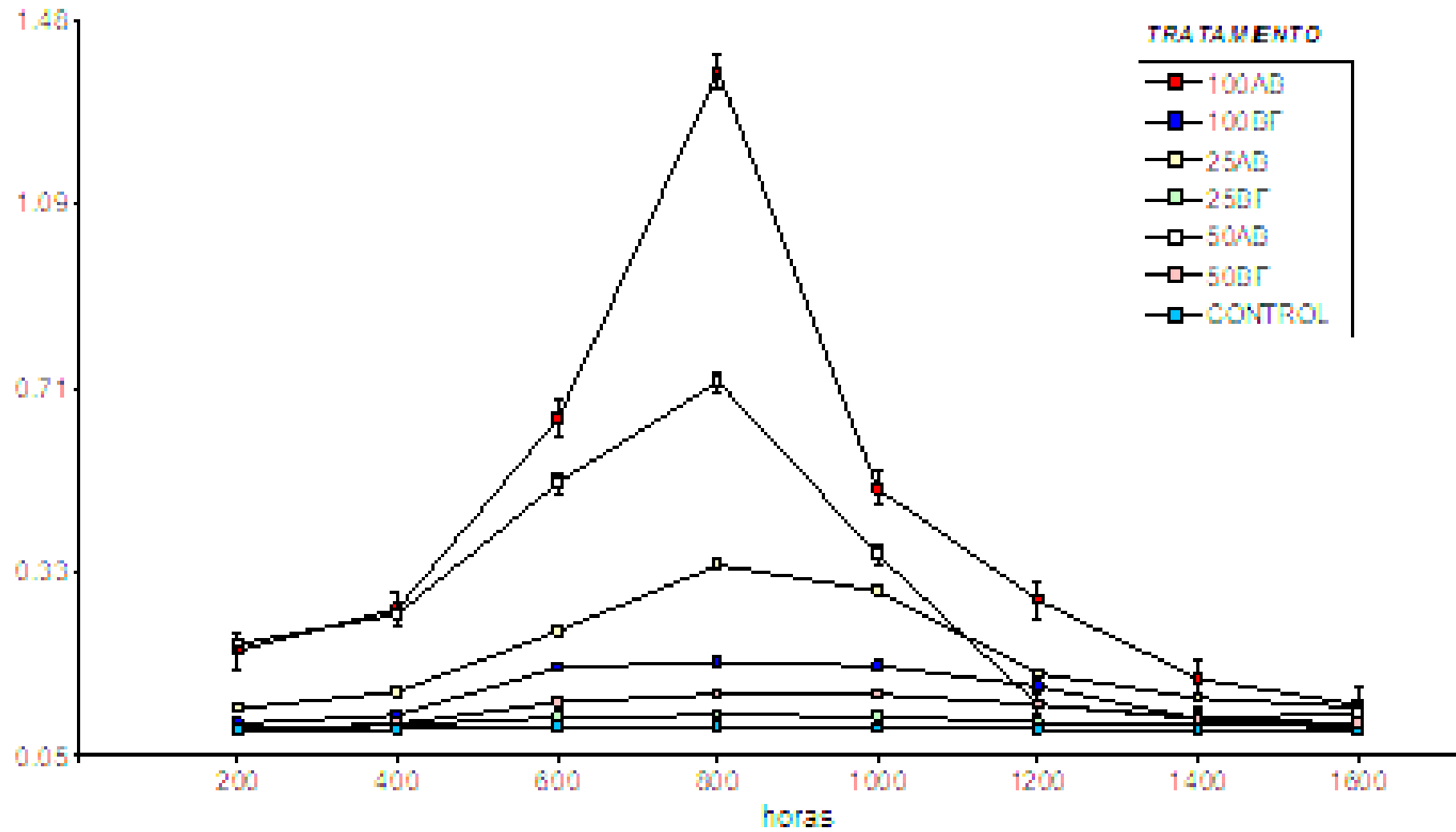
Tratamiento	horas	Medias	E.E.									
100AB	800	1.37	0.04	A								
50AB	800	0.73	0.02	B								
100AB	600	0.65	0.04	B								
50AB	600	0.52	0.02	C								
100AB	1000	0.5	0.04	C								
50AB	1000	0.37	0.02	D								
25AB	800	0.35	0.01	D								
25AB	1000	0.29	0.01	E								
100AB	1200	0.27	0.04	E	F							
100AB	400	0.25	0.04	E	F	G						
50AB	400	0.25	0.02		F	G						
25AB	600	0.21	0.01		F	G						
50AB	200	0.18	0.02			G	H					
100AB	200	0.17	0.04			G	H					
100BF	800	0.15	4.50E-03				H					
100BF	1000	0.14	4.50E-03				H					
100BF	600	0.13	4.50E-03				H					
25AB	1200	0.12	0.01				H	I				
100AB	1400	0.11	0.04				H	I	J			
100BF	1200	0.1	4.50E-03					I	J			
25AB	400	0.08	0.01					I	J			
50BF	1000	0.08	2.80E-03					I	J			
50BF	800	0.08	2.80E-03					I	J			
25AB	1400	0.07	0.01					I	J			
50BF	600	0.06	2.80E-03					I	J			
50AB	1200	0.06	0.02					I	J	K		
50BF	1200	0.06	2.80E-03					I	J	K		
100AB	1600	0.06	0.04					I	J	K	L	
25AB	1600	0.05	0.01						J	K	L	
25AB	200	0.05	0.01						J	K	L	
50AB	1600	0.04	0.02						J	K	L	
100BF	400	0.04	4.50E-03						J	K	L	
25BF	800	0.04	9.60E-04						J	K	L	
25BF	1000	0.03	9.60E-04						J	K	L	
50AB	1400	0.03	0.02						J	K	L	
25BF	600	0.03	9.60E-04							K	L	
100BF	1400	0.03	4.50E-03							K	L	
50BF	1400	0.03	2.80E-03							K	L	
25BF	1200	0.02	9.60E-04							K	L	
50BF	400	0.02	2.80E-03							K	L	
50BF	1600	0.02	2.80E-03							K	L	
100BF	200	0.02	4.50E-03							K	L	
25BF	1400	0.02	9.60E-04								L	
25BF	400	0.02	9.60E-04								L	
25BF	1600	0.01	9.60E-04								L	
CONTROL	600	0.01	9.00E-04									L

Continuación ...

CONTROL	800	0.01	9.00E-04								L
25BF	200	0.01	9.60E-04								L
CONTROL	1000	0.01	9.00E-04								L
CONTROL	400	0.01	9.00E-04								L
CONTROL	1200	0.01	9.00E-04								L
100BF	1600	0.01	4.50E-03								L
50BF	200	0.01	2.80E-03								L
CONTROL	1400	0.01	9.00E-04								L
CONTROL	200	0.01	9.00E-04								L
CONTROL	1600	9.30E-04	9.00E-04								L

La mayor media fue obtenida para 100 AB con 800 horas: 1.37 ± 0.04

2.4. Comparación de asimilación de Nitrato mili Molar por Conchocelis



Anexo 3. Prueba Estadística de Fosfato mili Molar (PO₄) de Conchocelis

		200	400	600	800	1000	1200	1400	1600
Solución hidropónica AyB la Molina	25% -1	0.0028	0.0069	0.0122	0.0139	0.0132	0.0052	0.0028	0.0021
	25% -2	0.0035	0.0052	0.0111	0.0132	0.0122	0.0069	0.0021	0.0017
	25% -3	0.0031	0.0059	0.0104	0.0136	0.0125	0.0076	0.0024	0.0024
	50% -1	0.0045	0.0059	0.0382	0.0365	0.0208	0.0042	0.0069	0.0052
	50% -2	0.0052	0.0076	0.0452	0.0347	0.0122	0.0035	0.0073	0.0069
	50% -3	0.0063	0.0080	0.0417	0.0382	0.0160	0.0031	0.0076	0.0063
	100% -1	0.0069	0.0136	0.0486	0.0514	0.0462	0.0156	0.0167	0.0115
	100% -2	0.0052	0.0149	0.0459	0.0521	0.0486	0.0139	0.0160	0.0122
	100% -3	0.0059	0.0160	0.0476	0.0556	0.0452	0.0174	0.0174	0.0146
Bayfolan®	25% -1	0.0031	0.0042	0.0074	0.0064	0.0053	0.0058	0.0061	0.0029
	25% -2	0.0034	0.0043	0.0076	0.0061	0.0049	0.0064	0.0058	0.0036
	25% -3	0.0027	0.0046	0.0067	0.0066	0.0052	0.0060	0.0059	0.0030
	50% -1	0.0056	0.0065	0.0132	0.0151	0.0099	0.0089	0.0069	0.0028
	50% -2	0.0046	0.0056	0.0139	0.0146	0.0107	0.0083	0.0063	0.0043
	50% -3	0.0042	0.0072	0.0128	0.0149	0.0106	0.0097	0.0056	0.0035
	100% -1	0.0042	0.0056	0.0167	0.0278	0.0320	0.0278	0.0083	0.0101
	100% -2	0.0032	0.0074	0.0188	0.0306	0.0334	0.0264	0.0097	0.0097
	100% -3	0.0028	0.0040	0.0195	0.0264	0.0282	0.0225	0.0111	0.0111
Control	Control -1	0.0036	0.0038	0.0063	0.0045	0.0035	0.0037	0.0036	0.0033
	Control -2	0.0040	0.0042	0.0059	0.0042	0.0037	0.0038	0.0031	0.0027
	Control -3	0.0034	0.0035	0.0056	0.0042	0.0039	0.0035	0.0035	0.0022

Anexo 4. Prueba Estadística de Fosfato micro Molar (PO₄) por Conchocelis

4.1. Análisis de Varianza

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

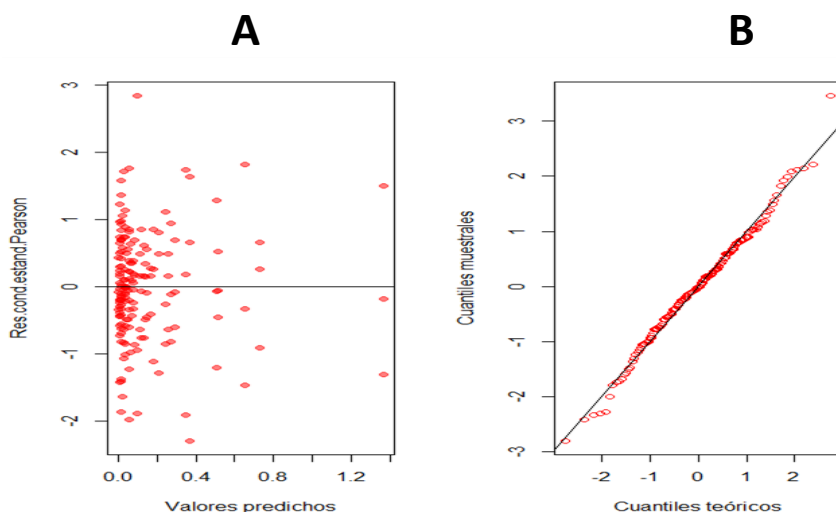
	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	14296.04	<0.0001
Tratamiento	6	941.57	<0.0001
horas	7	673.59	<0.0001
Tratamiento:horas	42	113.08	<0.0001

Existe interacción entre Tratamiento y horas ($F=113.08$, $p\text{-value}<0.05$)

Para el Fosfato se hizo el análisis de varianza; con ello se buscó analizar si los componentes interactuaban, en este caso el horas y Fosfato, en la tabla de arriba se aprecia que el p valor resulta significativo, lo que quiere decir que hay interacción entre los factores. Sin embargo, para tener la validación final, se necesita que se cumplan ambos supuestos, en este caso la normalidad de varianzas y normalidad de errores.

4.2 Cumplimiento de los supuestos

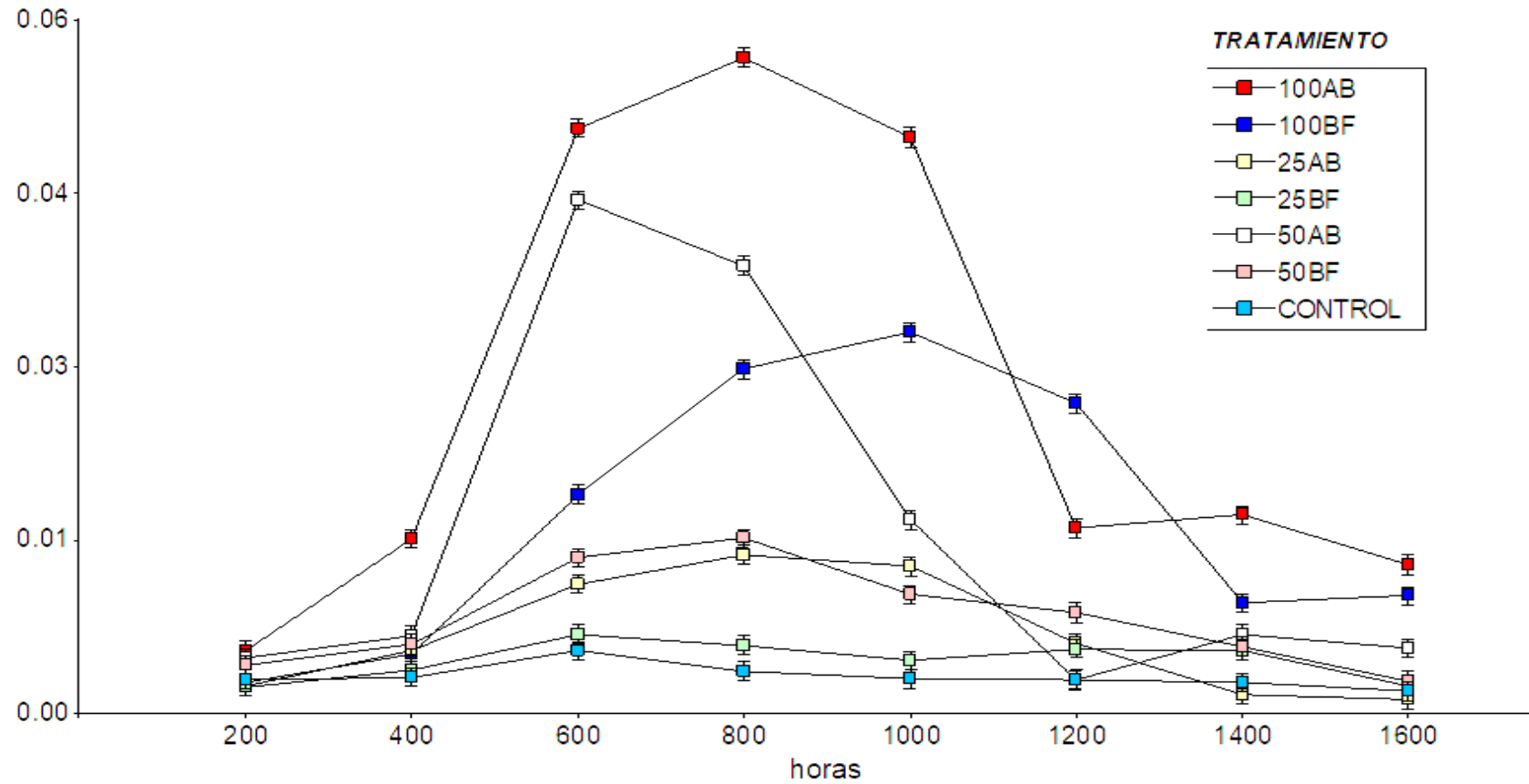
En la letra B), el valor de r es mayor a 0.94, lo que indica que hay normalidad; mientras en letra A), la dispersión entre los residuos y los valores predichos, no forman un patrón o un cono, lo cual permite asumir que hay homogeneidad de varianzas. Por lo tanto, se puede concluir, que hay interacción entre los factores; o sea entre la Tiempo y Nitrato. Además, el modelo estadísticamente está bien, por lo que se pudo hacer la comparación Tukey.



Continuación

50AB	400	0.01	7.40E-04																		Q	R	S															
25AB	1200	0.01	7.40E-04																			R	S	T														
50BF	400	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U													
25BF	800	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U	W												
50BF	1400	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U	W												
50AB	1600	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U	W												
25BF	1200	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U	W												
100AB	200	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U	W												
25AB	400	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U	W												
CONTROL	600	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U	W												
25BF	1400	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U	W												
100BF	400	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U	W	X											
50AB	200	0.01	7.40E-04																			R	S	T	U	W	X	Y										
25BF	1000	0.01	7.40E-04																			S	T	U	W	X	Y	Z										
50BF	200	4.80E-03	7.40E-04																			T	U	W	X	Y	Z	a										
25BF	400	4.40E-03	7.40E-04																					U	W	X	Y	Z	a	b								
CONTROL	800	4.30E-03	7.40E-04																						W	X	Y	Z	a	b								
CONTROL	400	3.80E-03	7.40E-04																							X	Y	Z	a	b	c							
CONTROL	1000	3.70E-03	7.40E-04																							X	Y	Z	a	b	c							
CONTROL	200	3.70E-03	7.40E-04																							X	Y	Z	a	b	c							
CONTROL	1200	3.70E-03	7.40E-04																							X	Y	Z	a	b	c							
50AB	1200	3.60E-03	7.40E-04																							X	Y	Z	a	b	c							

4.4. Comparación de asimilación de Fosfato mili Molar por diferentes tratamientos



El resultado más elevado para la concentración de Fosfato mili Molar se dio con 100AB a 800 horas, seguido el mismo tratamiento con 600 y 1000 horas.

Anexo 5. Prueba Estadística del Crecimiento en mm² de Conchocelis

		200	400	600	800	1000	1200	1400	1600
Solución hidropónica AyB la Molina	25% -1	0.0968	0.1410	0.7548	3.9815	4.4672	3.5900	3.3464	3.1530
	25% -2	0.0770	0.1348	0.7258	3.8926	4.0843	3.4700	3.2654	3.1823
	25% -3	0.0933	0.1453	0.7258	3.8375	3.9093	3.5800	3.4263	3.2630
	50% -1	0.0950	0.1112	0.7645	1.3854	1.6014	1.5483	1.3648	1.2486
	50% -2	0.0785	0.1133	0.8148	1.3332	1.9003	1.8612	1.5483	1.3560
	50% -3	0.0636	0.1146	0.9240	1.4053	2.1566	2.0960	1.7846	1.4856
	100% -1	0.0636	0.1144	1.0235	1.4186	2.0146	1.8860	1.6481	1.5230
	100% -2	0.0882	0.1208	1.0247	1.4590	1.8966	1.7563	1.5326	1.4563
	100% -3	0.0950	0.1188	1.0122	1.5344	2.0460	1.8436	1.6782	1.5367
Bayfolan®	25% -1	0.0701	0.1208	0.4948	1.5693	1.5304	1.4132	1.2678	1.0623
	25% -2	0.0520	0.1287	0.5027	1.5975	1.6280	1.3363	1.1849	1.0156
	25% -3	0.1006	0.1267	0.4873	1.4658	1.2454	1.1960	1.1265	0.9863
	50% -1	0.0950	0.1247	0.4191	0.8347	1.0633	0.9653	0.8463	0.7856
	50% -2	0.0636	0.1283	0.4173	0.8143	1.1929	1.0360	0.8769	0.7963
	50% -3	0.0785	0.1289	0.4195	0.8501	1.3055	1.0865	0.9122	0.8321
	100% -1	0.0503	0.1279	0.4714	0.7942	0.9282	0.8563	0.7562	0.7216
	100% -2	0.0650	0.1307	0.4707	0.7843	0.9569	0.8648	0.7633	0.7278
	100% -3	0.0770	0.1315	0.4669	0.7823	0.9323	0.8624	0.7615	0.7267
Control	Control -1	0.0882	0.1129	0.3237	0.8143	1.1076	0.9765	0.9445	0.8989
	Control -2	0.0950	0.1021	0.3192	0.8296	1.0493	0.9680	0.9365	0.8814
	Control -3	0.1227	0.1094	0.3483	0.8347	1.0825	0.9684	0.9358	0.8803

Anexo 6. Prueba Estadística de Crecimiento (mm²) por Conchocelis

6.1. Análisis de Varianza

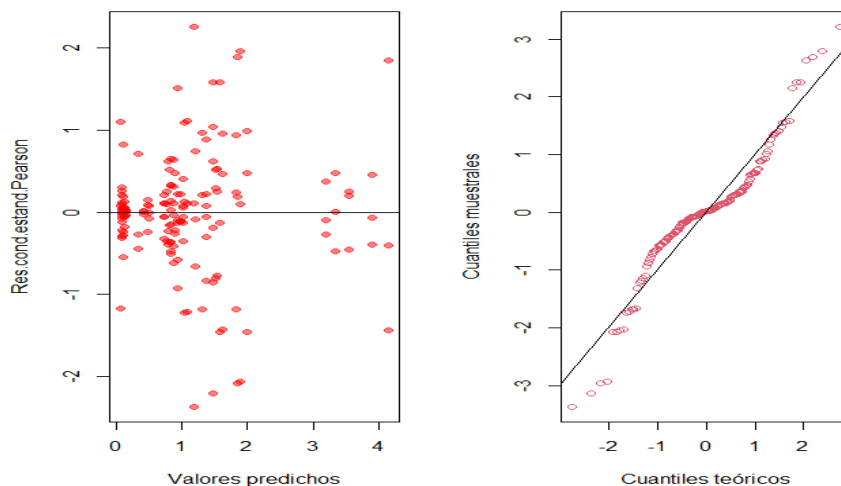
Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)			
	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	4440.78	<0.0001
Tratamiento	6	193.62	<0.0001
horas	7	2048.08	<0.0001
Tratamiento:horas	42	146.43	<0.0001

Hubo interacción entre los tratamientos y las horas

Para el Crecimiento se hizo el análisis de varianza; con ello se buscó analizar si los componentes interactuaban, en este caso el horas y Crecimiento, en la tabla de arriba se aprecia que el p valor resulta significativo, lo que quiere decir que hay interacción entre los factores. Sin embargo, para tener la validación final, se necesita que se cumplan ambos supuestos, en este caso la normalidad de varianzas y normalidad de errores.

6.2 Cumplimiento de los supuestos

Para analizar la normalidad de los residuales para todas las variables medidas se analizó la normalidad usando la prueba de Shapiro-Francia siendo un valor de r es mayor a 0.94 en la gráfica B. La homogeneidad de varianzas se analiza cuando los errores son homocedásticos, haciendo un gráfico de dispersión de residuos versus valores predichos se debe observar una nube de puntos sin patrón alguno (patrón aleatorio o cono) en la Figura A. Por lo tanto, se puede concluir, que hay interacción entre los factores; o sea entre la Tiempo y Crecimiento.



6.3. Comparación de Tratamientos

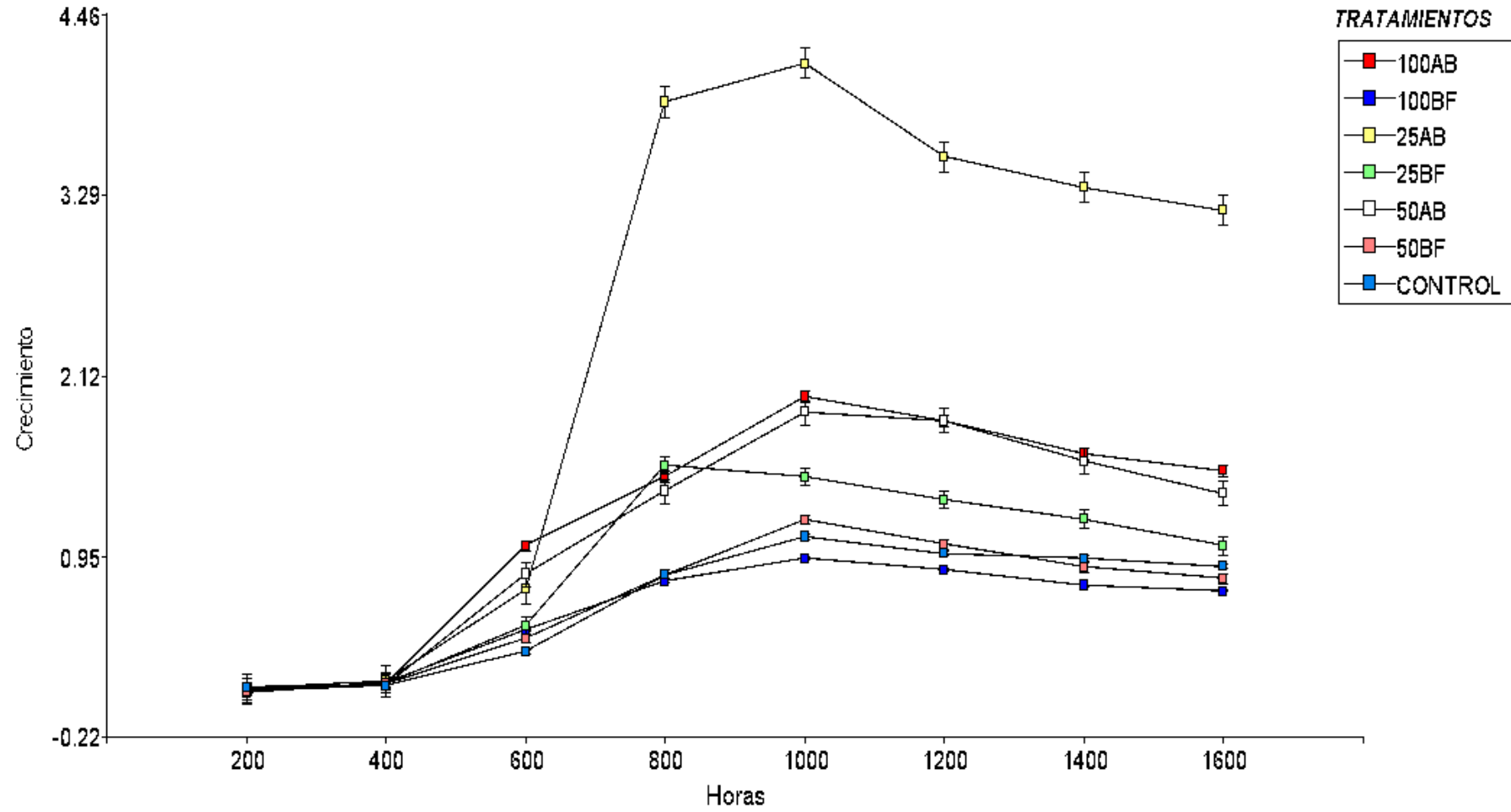
Tratamiento	horas	Medias	E.E.																					
25AB	1000	4.15	0.1	A																				
25AB	800	3.9	0.1		B																			
25AB	1200	3.55	0.1			C																		
25AB	1400	3.35	0.1				D																	
25AB	1600	3.2	0.1					E																
100AB	1000	1.99	0.04						F															
50AB	1000	1.89	0.08						F	G														
50AB	1200	1.84	0.08						F	G														
100AB	1200	1.83	0.04							G														
100AB	1400	1.62	0.04								H													
50AB	1400	1.57	0.08								H	I												
25BF	800	1.54	0.06								H	I	J											
100AB	1600	1.51	0.04									I	J											
100AB	800	1.47	0.04									I	J											
25BF	1000	1.47	0.06									I	J											
50AB	800	1.37	0.08										J	K										
50AB	1600	1.36	0.08										J	K										
25BF	1200	1.32	0.06											K	L									
25BF	1400	1.19	0.06											K	L	M								
50BF	1000	1.19	0.03												L	M								
CONTROL	1000	1.08	0.01													M	N							
50BF	1200	1.03	0.03														N	O						
25BF	1600	1.02	0.06														N	O	P					
100AB	600	1.02	0.04														N	O	P					
CONTROL	1200	0.97	0.01															O	P					
100BF	1000	0.94	0.01																P					
CONTROL	1400	0.94	0.01																P					

Continuación ...

CONTROL	1600	0.89	0.01																P	Q				
50BF	1400	0.88	0.03																P	Q				
100BF	1200	0.86	0.01																P	Q				
50AB	600	0.83	0.08																P	Q	R			
50BF	800	0.83	0.03																	Q	R			
CONTROL	800	0.83	0.01																	Q	R			
50BF	1600	0.8	0.03																	Q	R			
100BF	800	0.79	0.01																	Q	R			
100BF	1400	0.76	0.01																	Q	R			
25AB	600	0.74	0.1																	Q	R			
100BF	1600	0.73	0.01																		R			
25BF	600	0.49	0.06																			S		
100BF	600	0.47	0.01																			S		
50BF	600	0.42	0.03																			S		
CONTROL	600	0.33	0.01																				T	
25AB	400	0.14	0.1																				T	U
100BF	400	0.13	0.01																					U
50BF	400	0.13	0.03																					U
25BF	400	0.13	0.06																					U
100AB	400	0.12	0.04																					U
50AB	400	0.11	0.08																					U
CONTROL	400	0.11	0.01																					U
CONTROL	200	0.1	0.01																					U
25AB	200	0.09	0.1																					U
100AB	200	0.08	0.04																					U
50BF	200	0.08	0.03																					U
50AB	200	0.08	0.08																					U
25BF	200	0.07	0.06																					U
100BF	200	0.06	0.01																					U

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

6.4. Comparación de Crecimiento en mm² por Conchocelis



Anexo 7. Prueba Estadística de pH de Conchocelis, *Porphyra* sp.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Solución hidropónica AyB la Molina	25% -1	7.78	7.79	7.80	7.80	7.80	7.81	7.81	7.82	7.82	7.83	7.84	7.84	7.85	7.86	7.87	7.88
	25% -2	7.79	7.80	7.81	7.81	7.82	7.82	7.83	7.83	7.84	7.84	7.85	7.85	7.86	7.87	7.87	7.88
	25% -3	7.78	7.79	7.80	7.80	7.80	7.81	7.82	7.83	7.83	7.84	7.84	7.85	7.86	7.86	7.87	7.88
	50% -1	7.79	7.80	7.81	7.81	7.82	7.82	7.83	7.83	7.84	7.84	7.85	7.86	7.86	7.87	7.88	7.88
	50% -2	7.78	7.79	7.80	7.80	7.81	7.82	7.82	7.83	7.83	7.84	7.84	7.85	7.86	7.86	7.87	7.88
	50% -3	7.79	7.80	7.80	7.82	7.83	7.83	7.84	7.82	7.86	7.87	7.87	7.87	7.88	7.88	7.89	7.90
	100% -1	7.81	7.82	7.82	7.83	7.84	7.84	7.84	7.85	7.86	7.87	7.87	7.88	7.88	7.89	7.95	7.97
	100% -2	7.80	7.82	7.82	7.82	7.83	7.83	7.84	7.84	7.86	7.87	7.87	7.87	7.88	7.89	7.96	7.99
	100% -3	7.81	7.82	7.82	7.83	7.83	7.84	7.84	7.85	7.86	7.86	7.87	7.88	7.89	7.90	7.95	7.96
Bayfolan®	25% -1	7.81	7.81	7.82	7.82	7.82	7.83	7.83	7.84	7.84	7.85	7.85	7.85	7.86	7.87	7.87	7.88
	25% -2	7.79	7.80	7.81	7.81	7.82	7.82	7.83	7.83	7.84	7.84	7.85	7.85	7.86	7.87	7.88	7.88
	25% -3	7.82	7.82	7.83	7.83	7.84	7.85	7.85	7.86	7.87	7.87	7.88	7.88	7.89	7.89	7.89	7.90

Continuación ...

	50% -1	7.82	7.82	7.83	7.84	7.84	7.85	7.85	7.86	7.86	7.87	7.89	7.89	7.91	7.96	7.99	8.15
	50% -2	7.81	7.81	7.82	7.83	7.83	7.84	7.85	7.86	7.86	7.88	7.88	7.90	7.92	7.94	7.99	8.11
	50% -3	7.82	7.82	7.82	7.83	7.85	7.85	7.87	7.87	7.88	7.90	7.91	7.93	7.94	7.95	7.99	8.17
	100% -1	7.82	7.82	7.82	7.83	7.83	7.85	7.86	7.89	7.95	7.96	7.96	7.98	7.99	8.00	8.09	8.11
	100% -2	7.82	7.82	7.83	7.82	7.83	7.84	7.84	7.86	7.88	7.90	7.91	7.92	7.95	7.97	7.97	8.09
	100% -3	7.82	7.82	7.82	7.82	7.83	7.85	7.87	7.88	7.91	7.91	7.93	7.96	7.97	7.98	7.99	8.00
Control	Control -1	7.80	7.80	7.79	7.79	7.80	7.81	7.82	7.82	7.82	7.83	7.83	7.84	7.84	7.85	7.85	7.86
	Control -2	7.78	7.78	7.78	7.78	7.79	7.79	7.82	7.82	7.83	7.83	7.83	7.83	7.84	7.84	7.84	7.85
	Control -3	7.76	7.76	7.76	7.77	7.78	7.78	7.78	7.79	7.79	7.81	7.82	7.82	7.81	7.78	7.78	7.78

Anexo 8. Prueba Estadística de pH

8.1. Análisis de Varianza

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

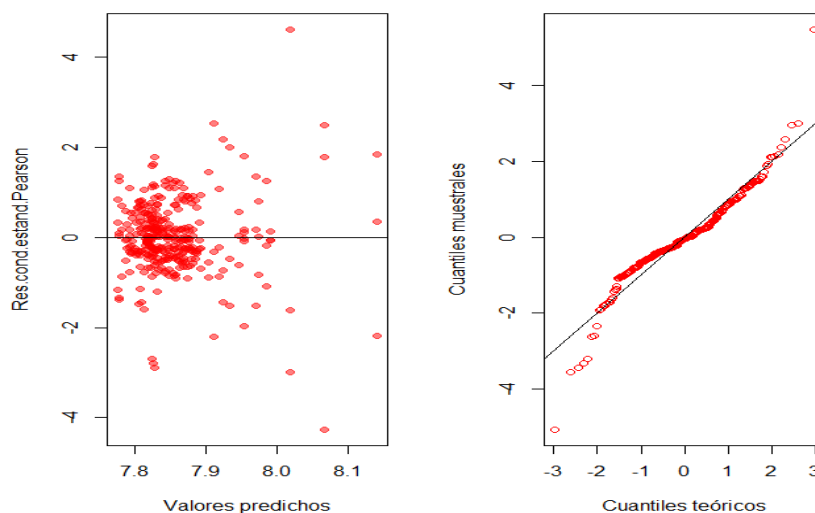
	numDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	23162786.05	<0.0001
Tratamiento	6	61.83	<0.0001
horas	15	223.74	<0.0001
Tratamiento:horas	90	15.98	<0.0001

Existe interacción entre Tratamiento y horas ($F=15.98$, $p\text{-value}<0.05$)

Para el pH se hizo el análisis de varianza; con ello se buscó analizar si los componentes interactuaban, en este caso el horas y pH, en la tabla de arriba se aprecia que el p valor resulta significativo, lo que quiere decir que hay interacción entre los factores. Sin embargo, para tener la validación final, se necesita que se cumplan ambos supuestos, en este caso la normalidad de varianzas y normalidad de errores.

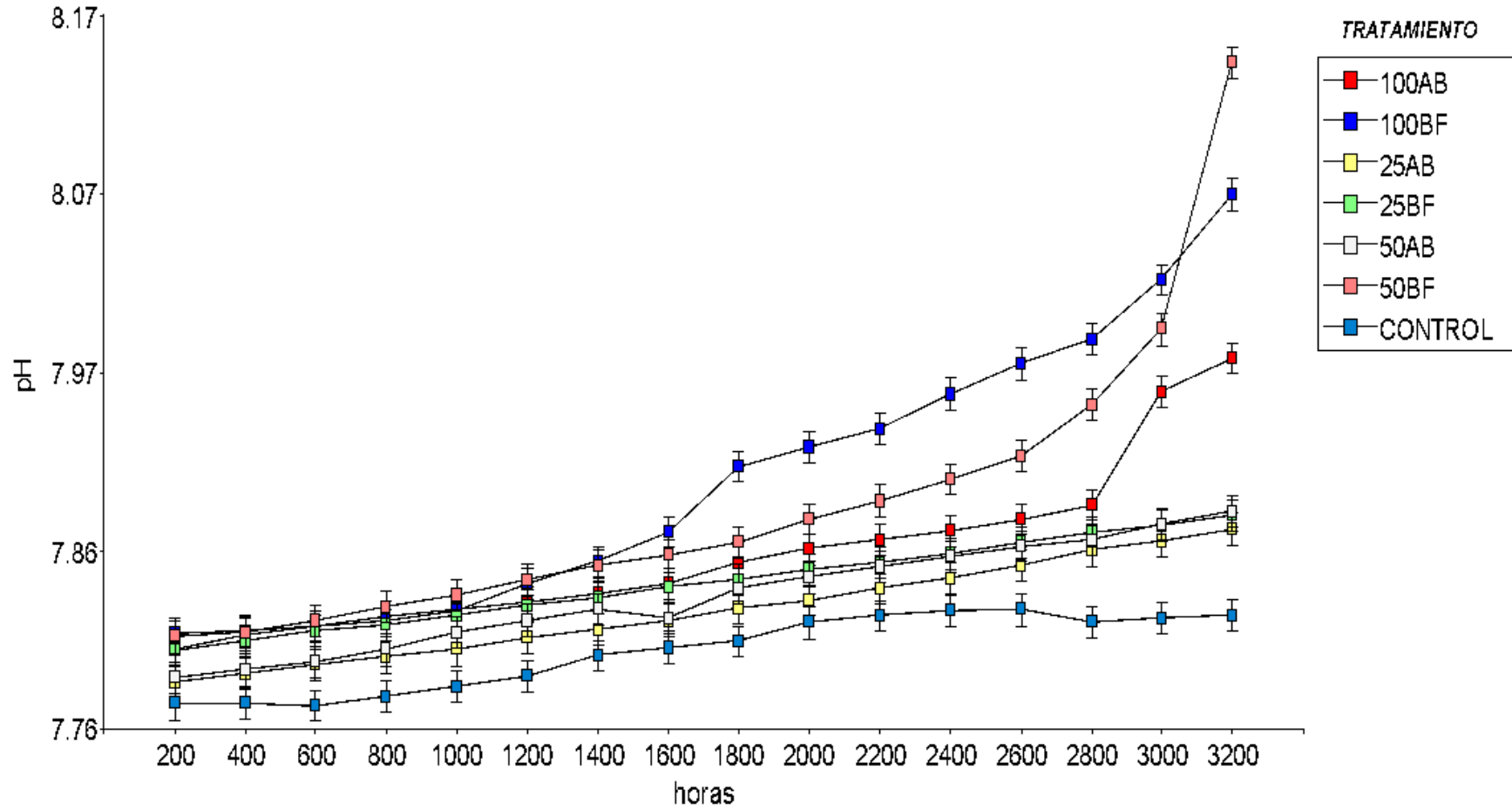
8.2 Cumplimiento de los supuestos

En la letra B), el valor de r es mayor a 0.94, lo que indica que hay normalidad; mientras en letra A), la dispersión entre los residuos y los valores predichos, no forman un patrón o un cono, lo cual permite asumir que hay homogeneidad de varianzas. Por lo tanto, se puede concluir, que hay interacción entre los factores; o sea entre la Tiempo y pH. Además, el modelo estadísticamente está bien, por lo que se pudo hacer la comparación Tuke.

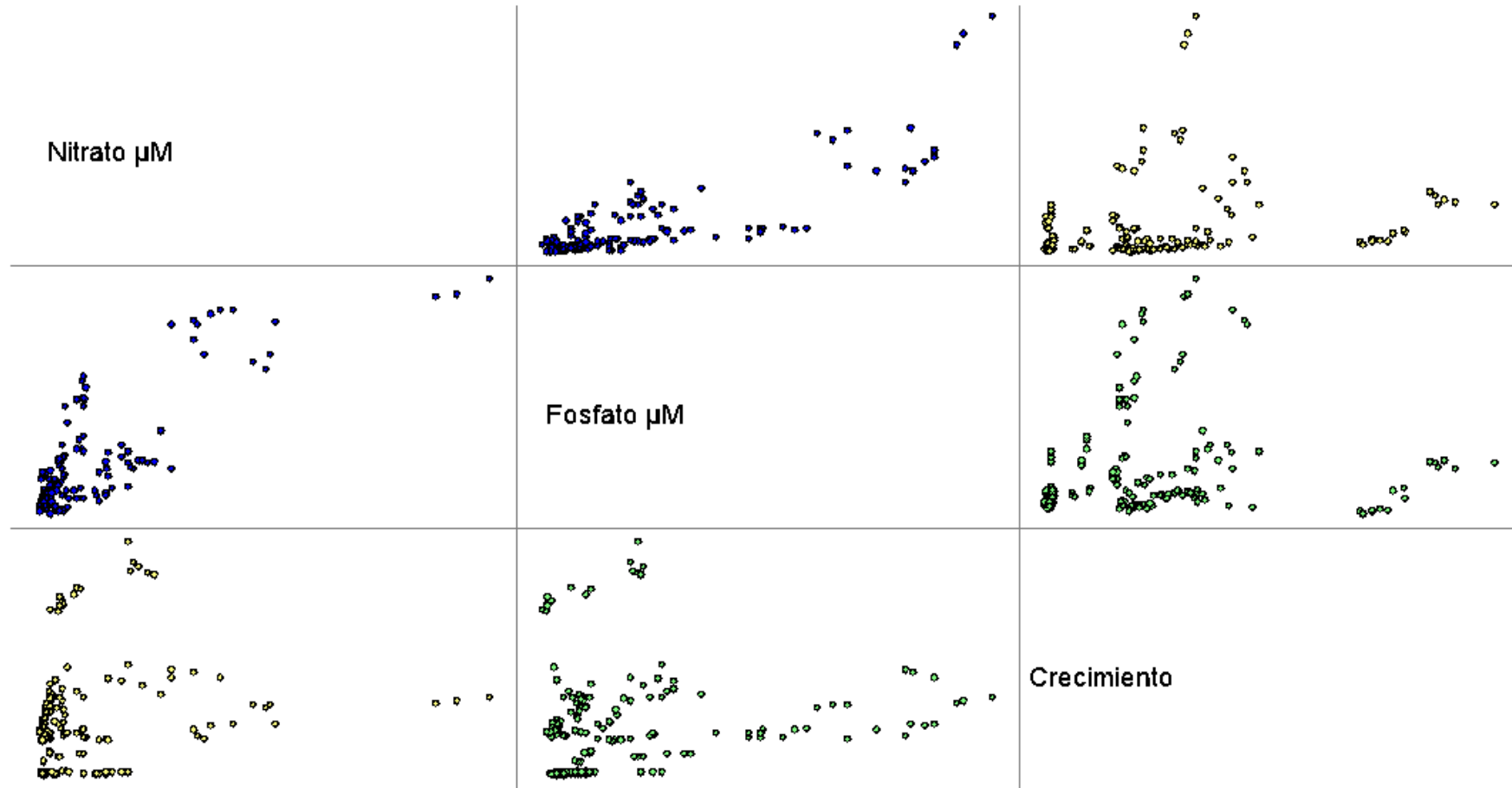


Anexo 9. Evolución del pH

8.3.Comparación de pH de Conchocelis



Anexo 10. Correlación de Pearson



Variable (1)	Variable (2)	n	Pearson	p-valor
Nitrato µM	Fosfato µM	168	0.83	<0.0001 Correlación significativa, alta
Nitrato µM	crecimiento	168	0.22	0.0047 Correlación significativa pero baja
Fosfato µM	crecimiento	168	0.12	0.1322 No hay correlación

Anexo 11. Preparación de la concentración iniciales de Fertilizantes Comerciales

Solución AyB					Bayfolan®*				
compuestos	g/L	factor			compuestos	g/L	factor		
Nitrato de Potasio + nitrato de amonio	379.5	-----			Nitrato de nitrógeno	41	-----		
P ₂ O ₅	162	2.3			P ₂ O ₅	80	2.3		
K ₂ O	50.6	1.2			K ₂ O	60	1.2		
Presentes en 100ml de solución					Presentes en 100ml de solución				
<i>Se necesita convertir a elementos asimilables por las algas</i>					<i>Se necesita convertir a elementos asimilables por las algas</i>				
compuestos	g/L	factor			compuestos	g/L			
Nitrato de Potasio + nitrato de amonio	379.5	-----			Nitrato de nitrógeno	41	----		
P	70.43	*0.33			P	34.78	*0.33		
K ₂ O	50.6	-----			K ₂ O	60			
<i>Elementos asimilados por las algas</i>					<i>Elementos asimilados por las algas</i>				
compuestos	g/L				compuestos	g/L			
Nitrato de Potasio + nitrato de amonio	379.5				Nitrato de nitrógeno	41			
PO ₄	23.24				PO ₄	11.48			
K ₂ O	50.6				K ₂ O	60			
Concentración inicial para todos los experimentos									
compuestos	mM	micro molar por cada 0.1ml de solución			compuestos	mM	micro molar por cada 0.1ml de solución		
Nitrato de Potasio + nitrato de amonio	1.530				Nitrato de Potasio	0.165			
PO ₄	0.061				PO ₄	0.030			
K ₂ O	0.134				K ₂ O	0.016			

Anexo 12. Ficha Técnica del Fertilizante líquido, Bayfolan®

AGLUKON Spezialdünger GmbH & Co. KG

AGLUKON

DATA SHEET - SPECIFICATION

Tradename	Bayfolan® 11-8-6 (NPK)
Type	NPK-liquid fertiliser with micronutrients
Formula	NPK 11-8-6 (w/v)
Code-No.	12716

NUTRIENT CONTENTS

			% w/v	% w/v #
Total nitrogen	N		9,1	11
Nitric nitrogen	NO ₃ -N	N	3,4	4,1
Ammoniacal nitrogen	NH ₄ -N	N	3,9	4,7
Carbamide nitrogen	NH ₂ -N	N	1,8	2,2
Water-soluble phosphate	P ₂ O ₅		6,6	8
Water-soluble potassium	K ₂ O		5,0	6
Water-soluble boron as borate	B		0,0084	0,0102
Water-soluble cobalt as chelate of EDTA	Co		0,0003	0,00036
Water-soluble copper as chelate of EDTA	Cu		0,0067	0,0081
Water-soluble iron as chelate of EDTA	Fe		0,0157	0,0180
Water-soluble manganese as chelate of EDTA	Mn		0,0134	0,0162
Water-soluble molybdenum as molybdate	Mo		0,0008	0,0009
Water-soluble zinc as chelate of EDTA	Zn		0,0051	0,0061

OTHERS

Vitamine B1			0,0002	0,00024
Indole acetic acid-(3)			0,0002	0,00024
Water-soluble sulphur	S		< 0,1	< 0,1
Chloride	Cl		< 0,1	< 0,1

PHYS.-CHEMICAL PROPERTIES

Appearance	- Form		Aqueous liquid	
	- Colour		Green	
Density (20°C)		approx.	1,215	g/cm ³
pH-value (20°C)	Product	approx.	5,6	
pH-value (20°C)	1% soln.	approx.	6,7	

NOTES

◆Nutrient content w/v	Calculated on density
Solubility	Fully water soluble in each ratio.
Storage	Do not store below + 5°C and above + 40°C . Frequent temperature variations should be avoided. Protect from contamination, sunlight and dry up.
Hazard	No hazardous material.
Transport	Without restriction for ADR/RID, IMDG and IATA/ICAO.

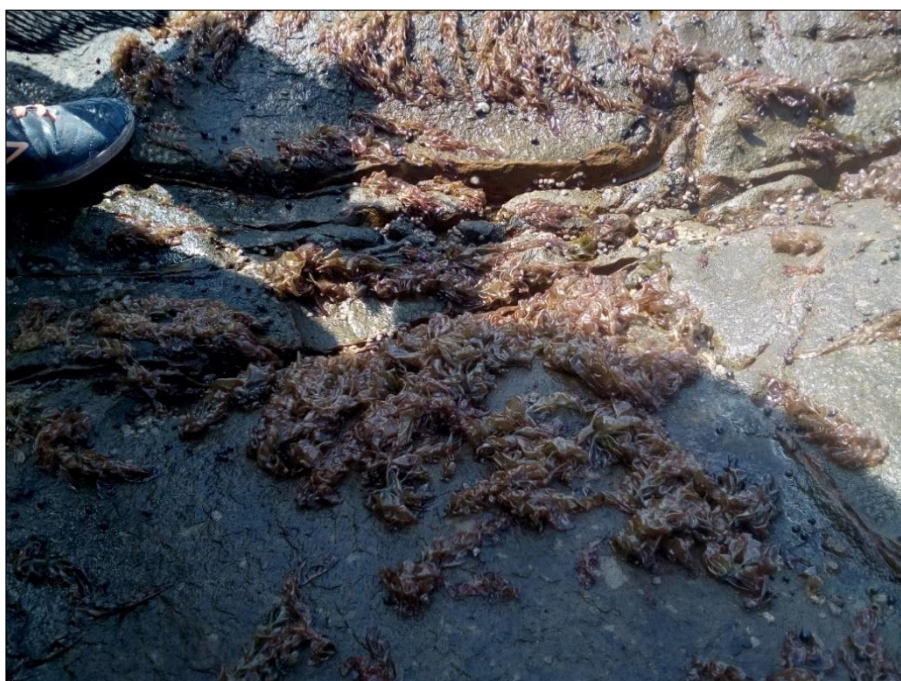
AGL UKON Spezialdünger GmbH & Co. KG, Heerdtel Landstrasse 199, 65249 Odenbach, Germany
12716_eng.doc

Anexo 13. Registro Fotografiográfico



Fotografía 1. La playa Santa Elena ubicado en la Bahía de Paracas.

(13°49'36"S; 76°16'22"O)



Fotografía 2. *Porphyra* sp. en las zonas intermareales de la playa Santa Elena.



Fotografía 3. Medición a escala de *Porphyra* sp.



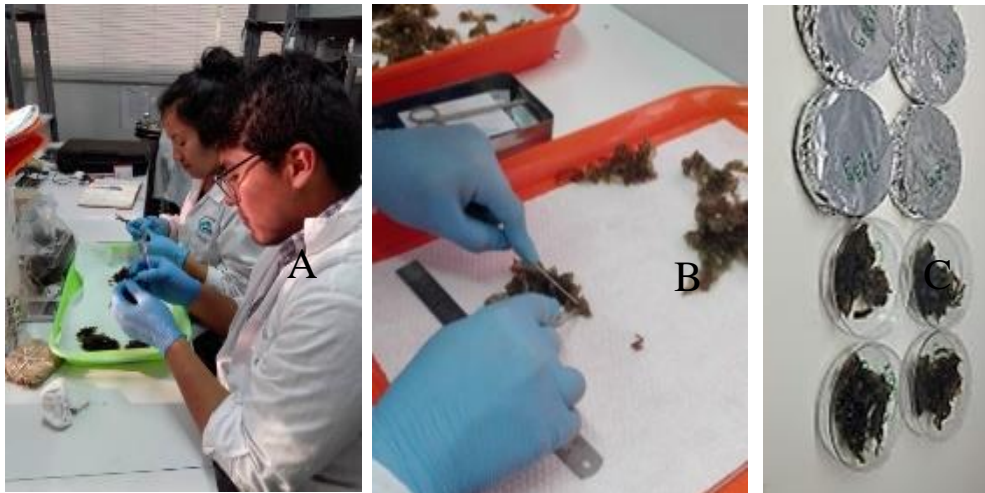
Fotografía 4. Sistema de filtrado y esterilización UV. **a).** Sistema de filtros de agua de mar (10, 5 y 1 μ m). **b).** Lámpara UV.



Fotografía 5. Muestra de vasos precipitados autoclavados de 500ml con una concha de *Argopecten purpuratus*.



Fotografía 6. Kit de medición de cloro disuelto.



Fotografía 7. A) Manejo de áreas reproductivas de cochayuyo (*Porphyra* sp.) en bandejas de plástico y papel para quitar la humedad. B) Disección de áreas reproductivas (bordes marrones rojizos) con un bisturí. C) Estrés de áreas reproductivas por variación de salinidad (deshidratación), de luz (oscuridad) y temperatura para inducir la liberación de cigotosporas.



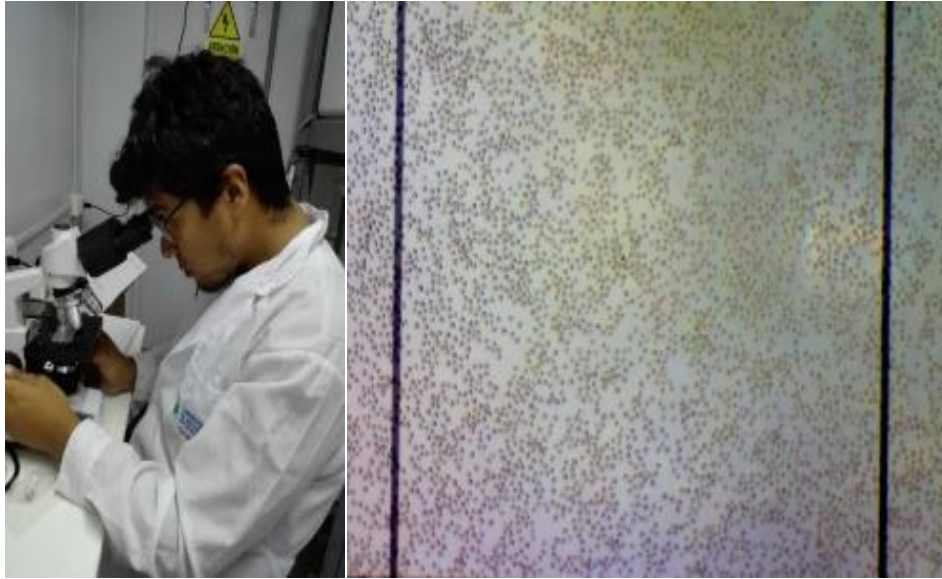
Fotografía 8. Áreas reproductivas en matraces en cámara de flujo laminar.



Fotografía 9. Liberación de Cigotosporas de las áreas reproductiva en matraces de 1 litro con una aireación promedio de 7.2 ml/L.



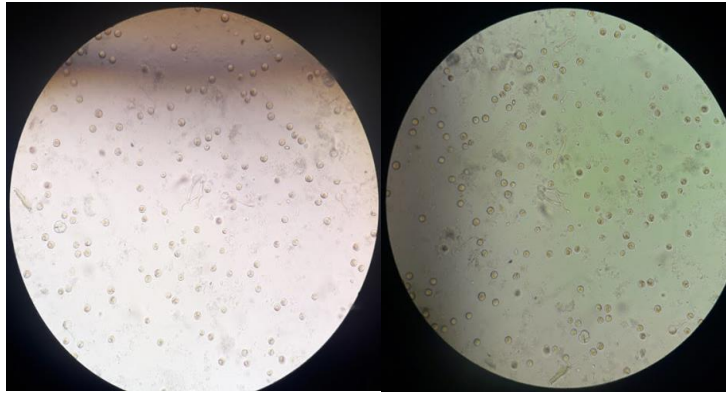
Fotografía 10. Solución de cigotosporas con mayores células por litro después de las 12 horas de inducción a la esporulación.



Fotografía 11. Determinación de la densidad de cigotosporas de cochayuyo (*Porphyra* sp.).



Fotografía 12. Sistemas de asentamiento de cultivo de la fase “conchocelis” de *Porphyra* sp. en cámaras de germinación a condiciones controladas.



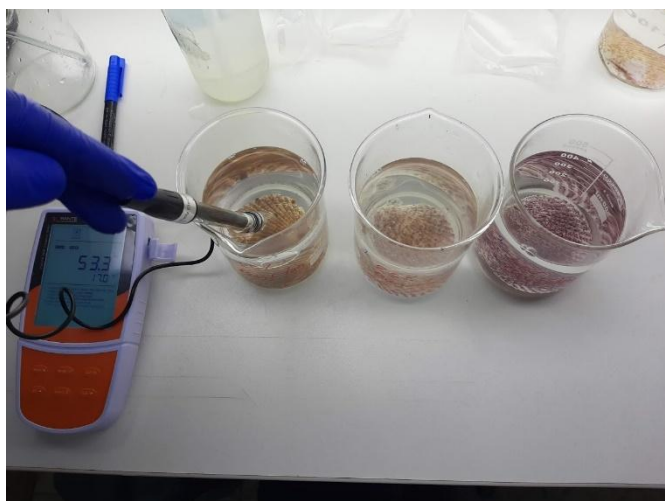
Fotografía 13. *Cigotospora* asentadas en la superficie convexa de conchas de abanico (*Argopecten purpuratus*) a



10X

Fotografía 14. Fotografíacolorímetro YSI 9500 de Nitrato y Fosfato

Fotografía 15. Monitoreo de los parámetros de Salinidad, Temperatura, Conductividad, TDS y pH.



Fotografía 16. Crecimiento de Conchocelis asentado de *Porphyra* sp. tomado con la el Microscopio trilocular iScope EuroMex a 1000X y 400X.

a) Asentado de Conchocelis en 10 horas tomado con la el Microscopio trilocular iScope EuroMex a 1000X.



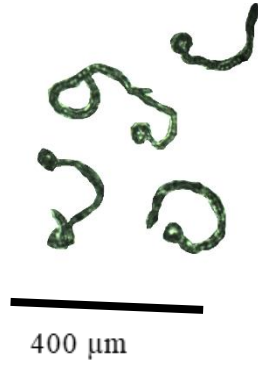
10 μm

b) Asentado de Conchocelis en 31 horas



400 μm

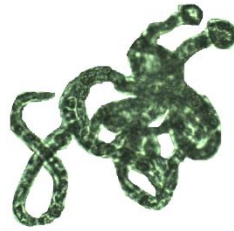
c) Asentado de Conchocelis en 55 horas



d) Asentado de Conchocelis en 46 horas



e) Asentado de Conchocelis en 75 horas



400 μm

f) Asentado de Conchocelis en 240 horas



400 μm

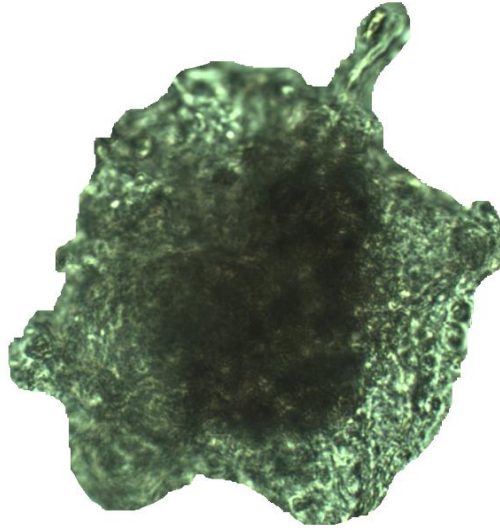
g) Asentado de Conchocelis en 436 horas



h) Asentado de Conchocelis en 810 horas



i) Asentado de Conchocelis en 900 horas

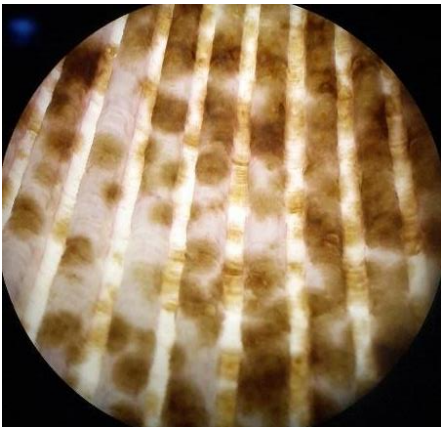
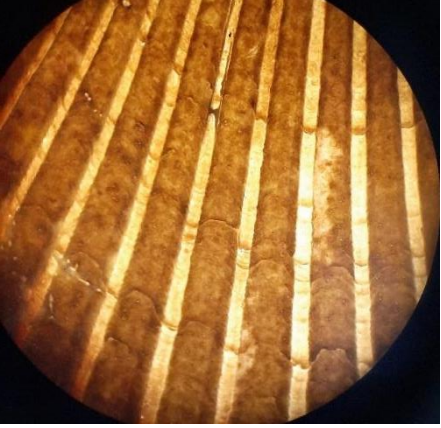


800 μm

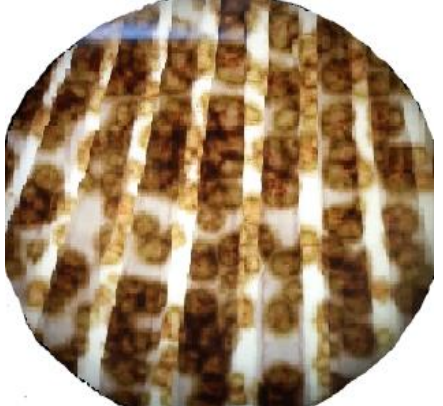
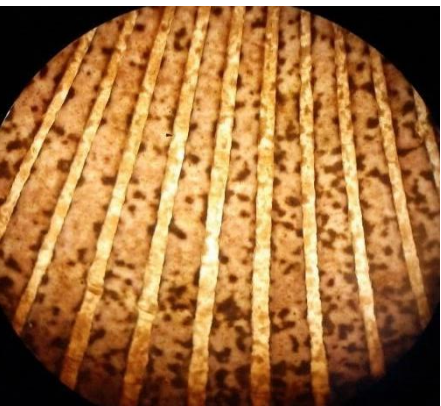
j) Asentado de Conchocelis en 1350 horas



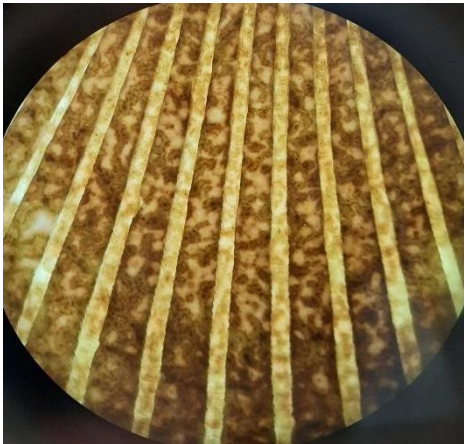
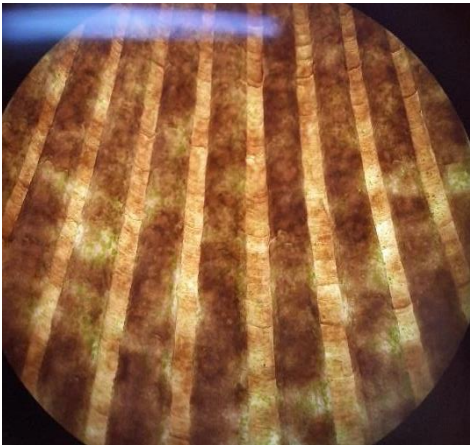
Fotografía 17. Observación del crecimiento de la fase Conchocelis de *Porphyra* sp. en Estereoscopio a 40X con fertilizantes al 25%

Solución Hidropónica AyB la Molina al 25%	Bayfolan® al 25%
	

Fotografía 18. Observación del Diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de *Porphyra* sp. en Estereoscopio a 40X con fertilizantes al 50%

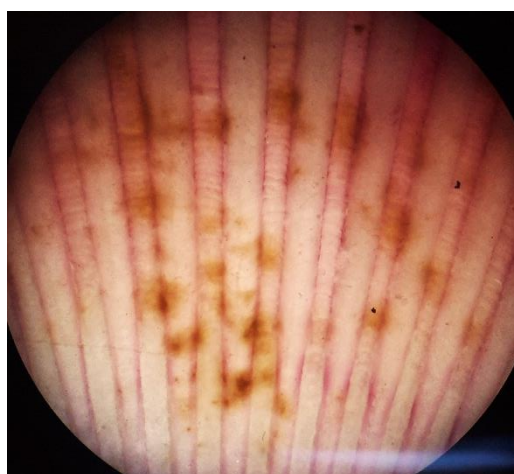
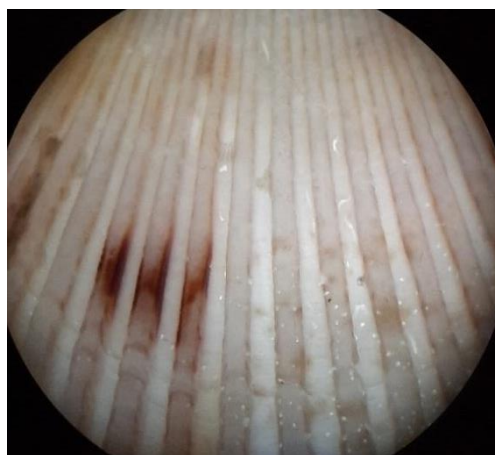
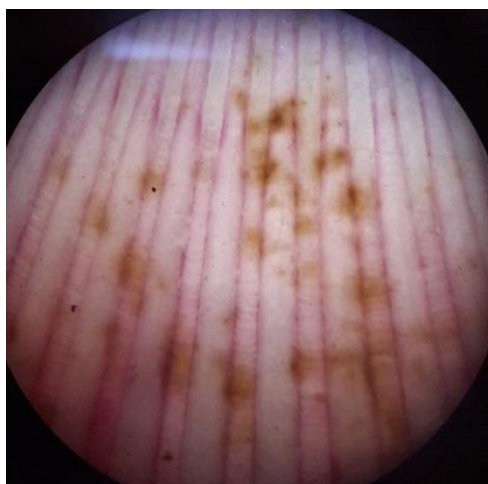
Solución Hidropónica AyB la Molina al 50%	Bayfolan® al 50%
	

Fotografía 19. Observación del Diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de *Porphyra* sp. en Estereoscopio a 40X con fertilizantes al 100%

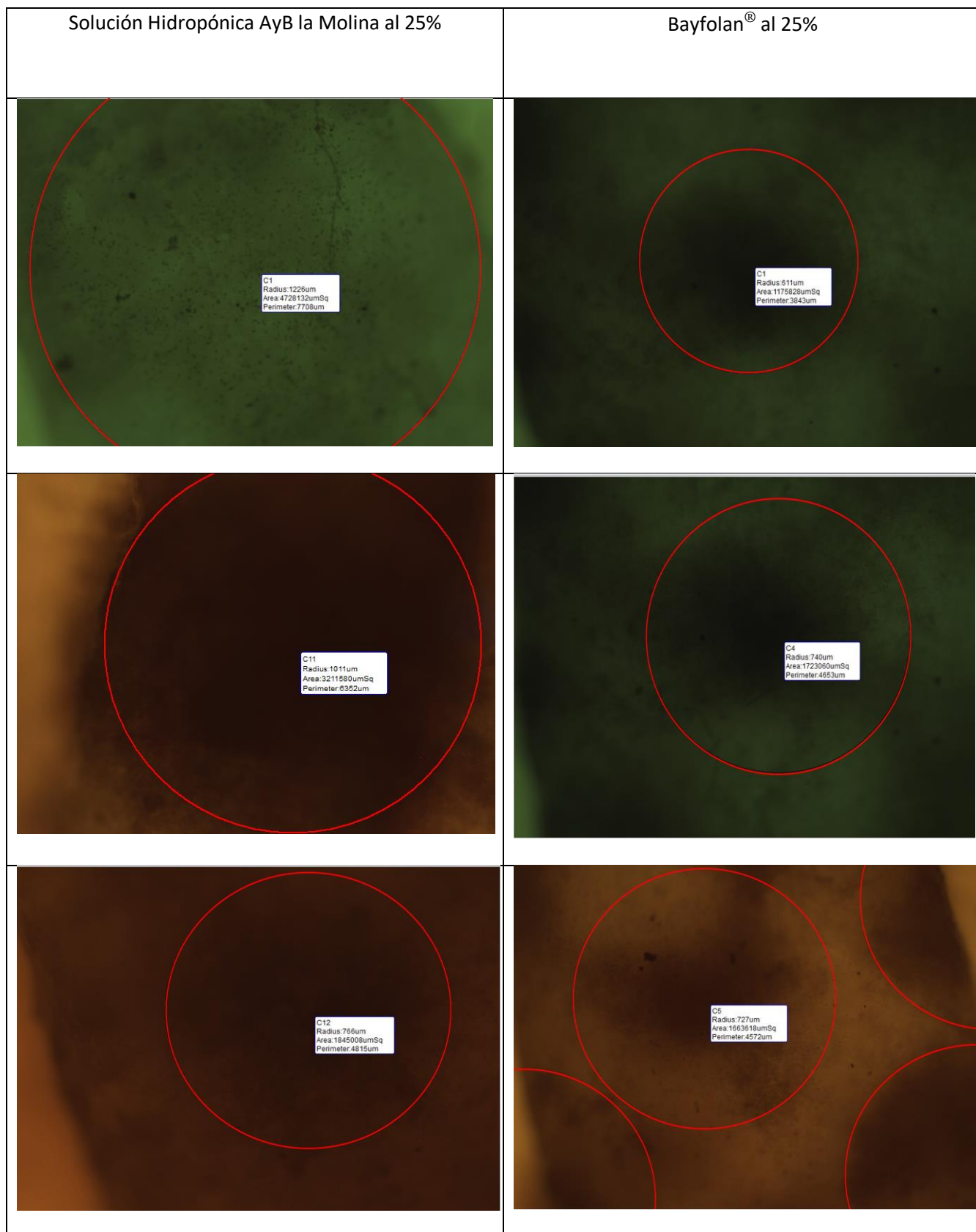
Solución Hidropónica AyB la Molina al 100%	Bayfolan® al 100%
	

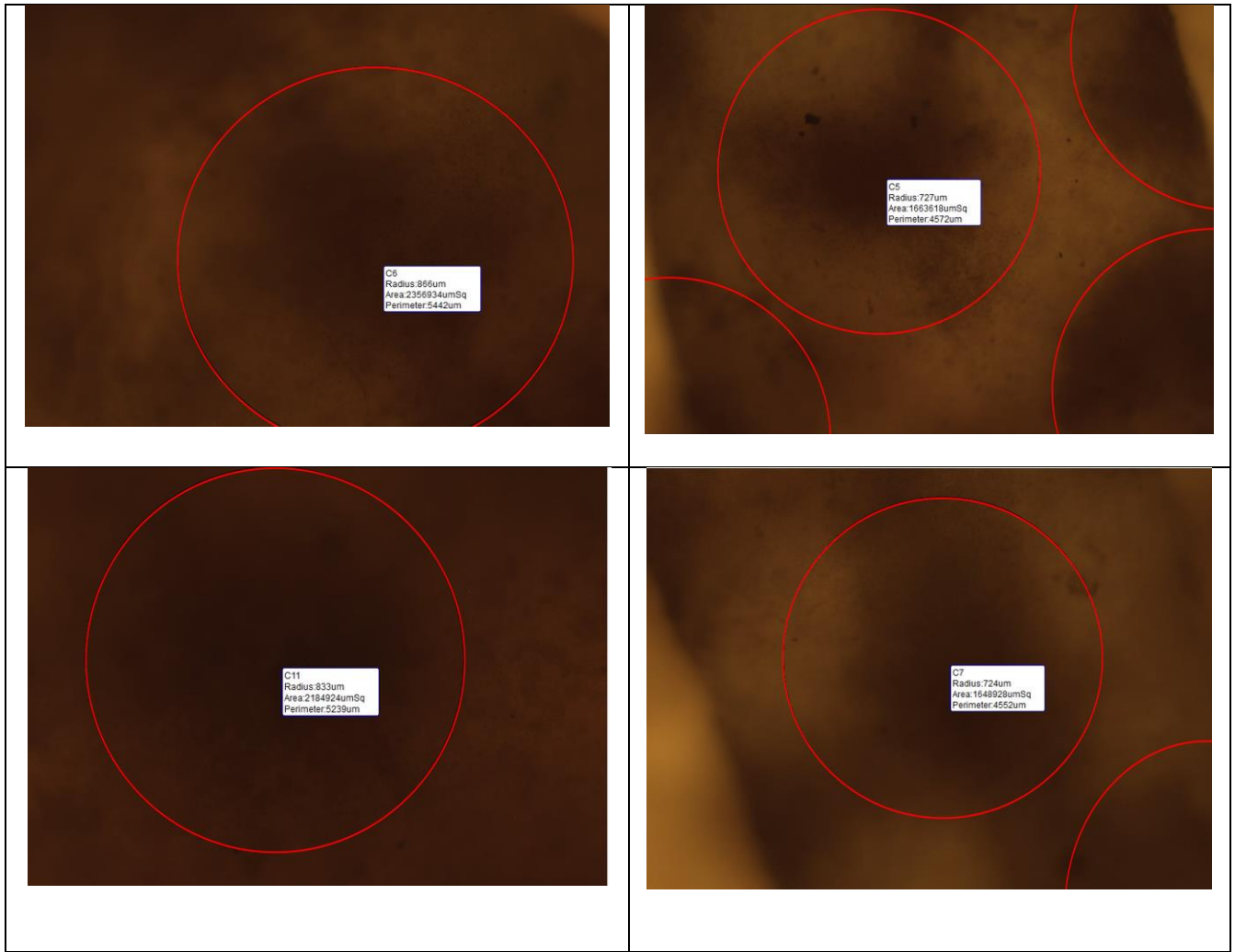
Fotografía 20. Observación del Diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de *Porphyra* sp. en Estereoscopio a 400X con fertilizantes al 0% (prueba control)

Controles

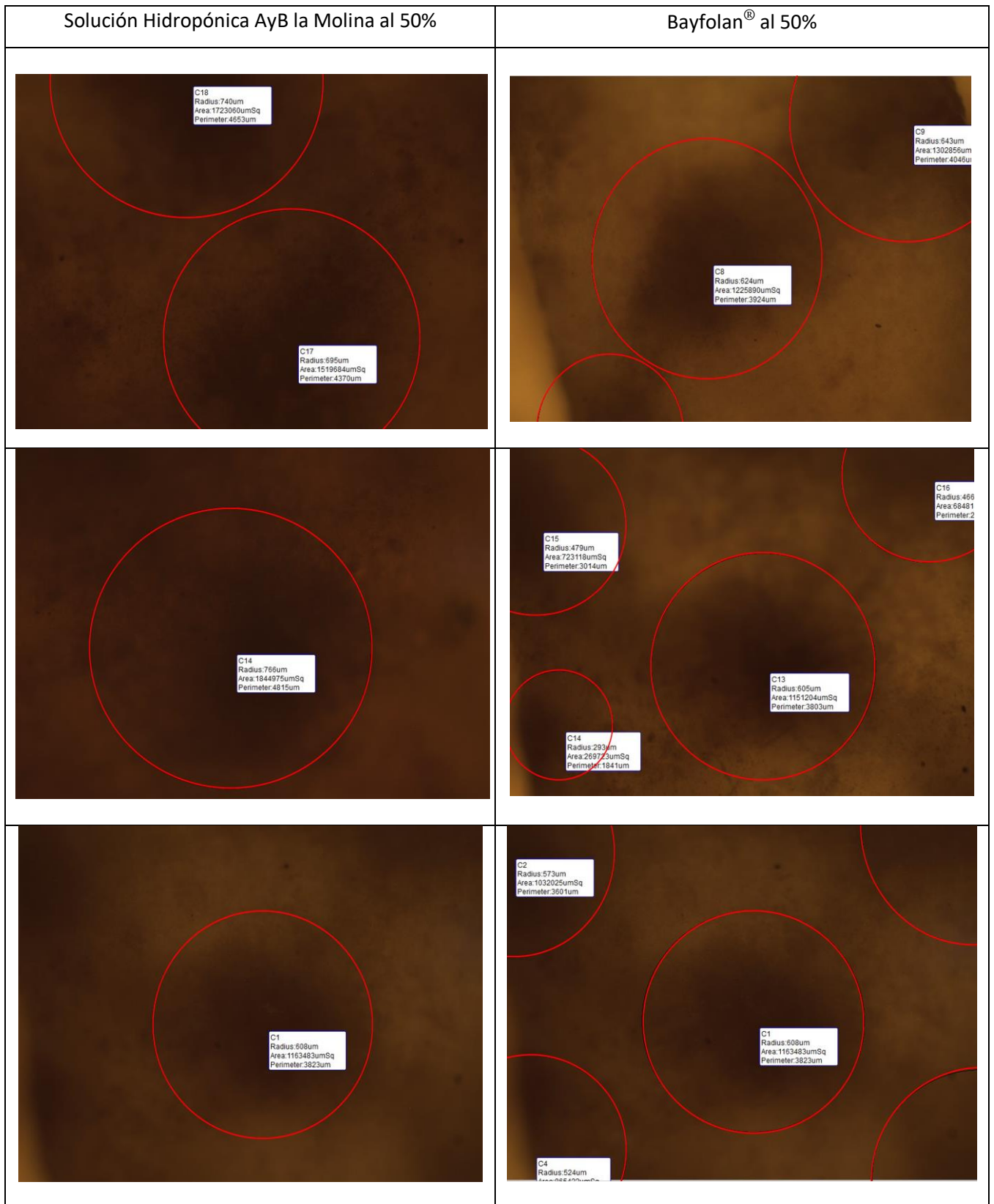


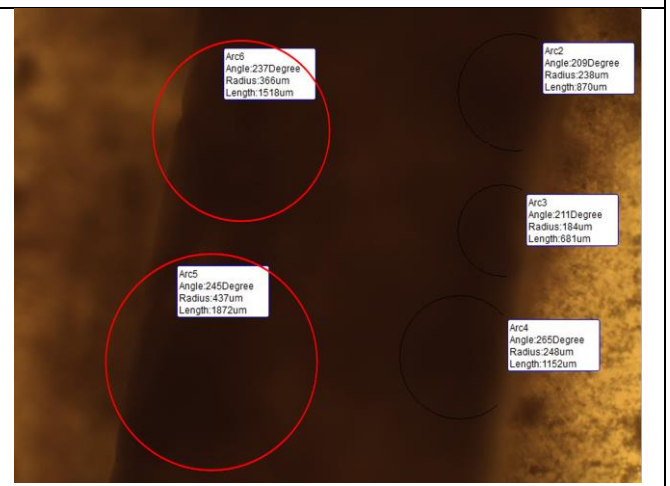
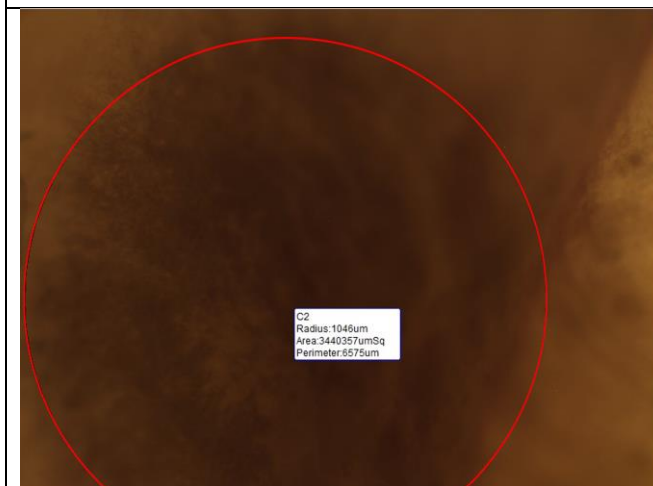
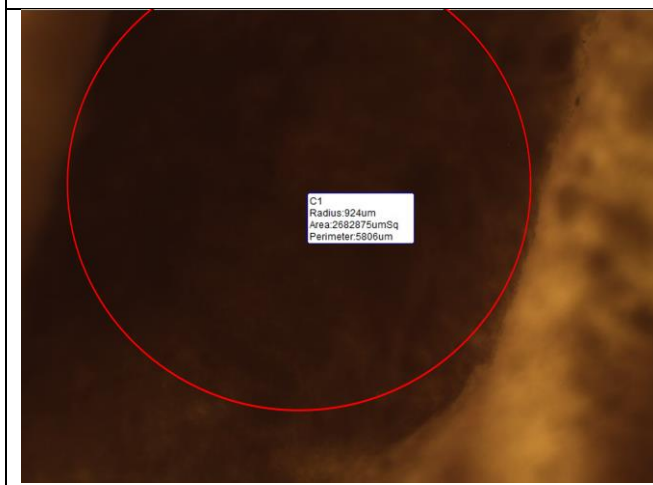
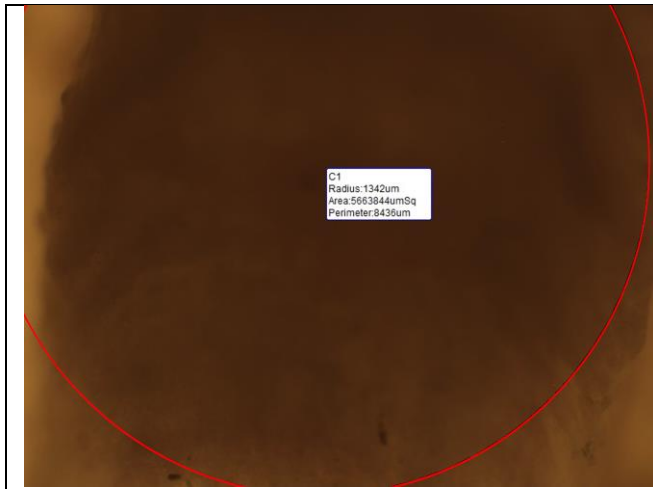
Fotografía 21. Observación del diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de *Porphyra* sp. con microscopio a 400X con fertilizantes al 25%



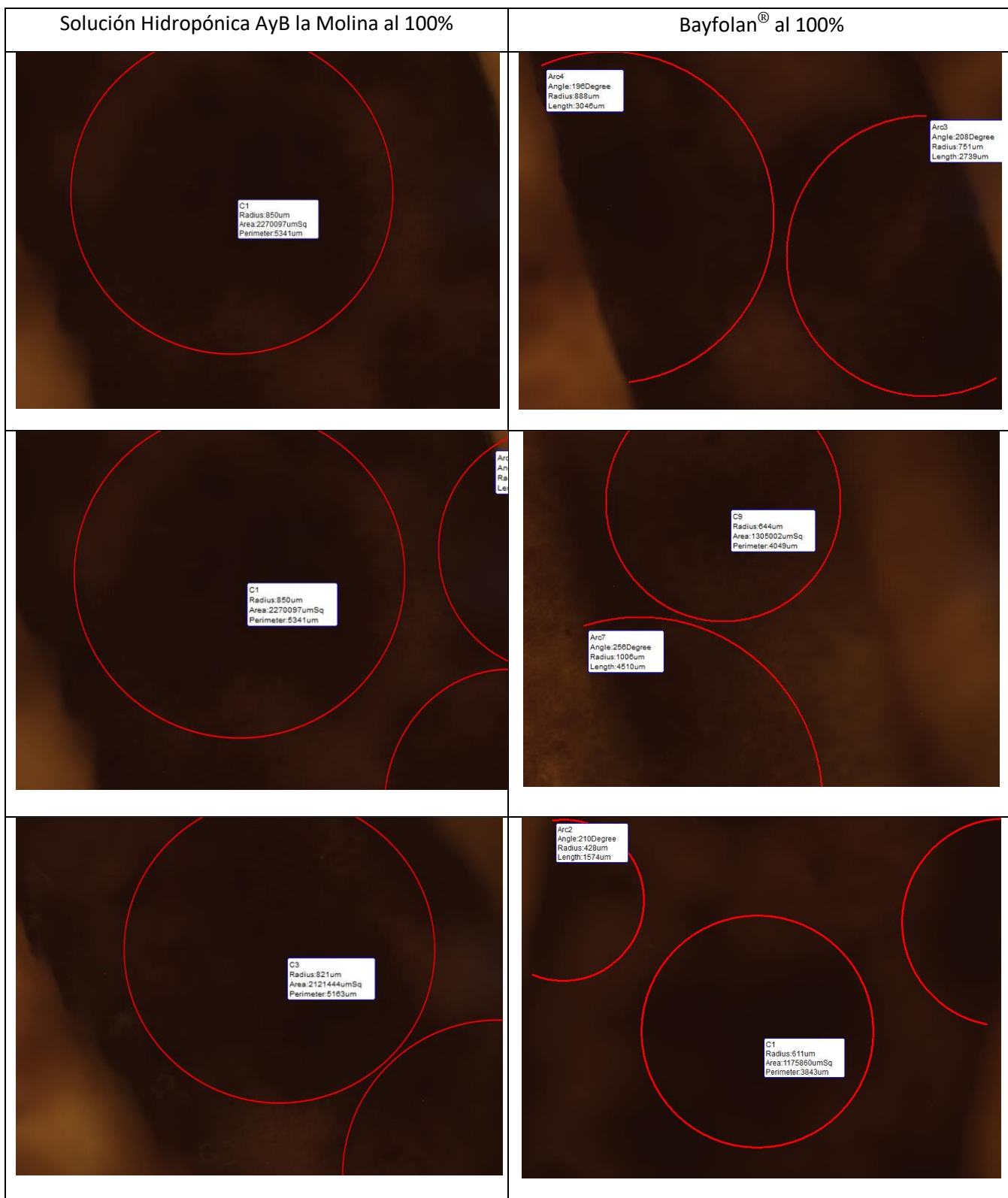


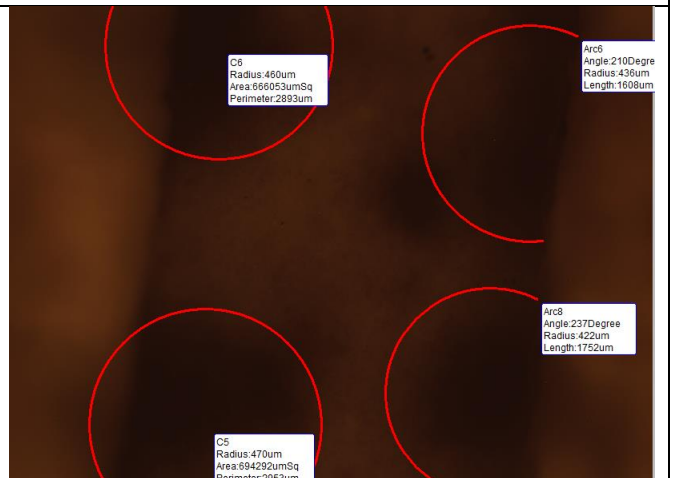
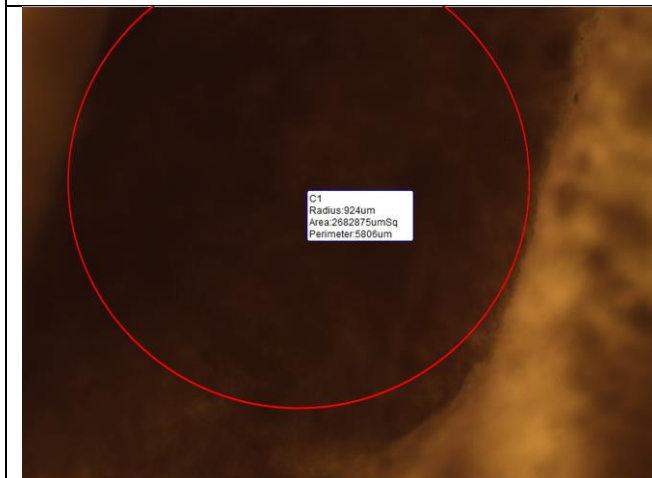
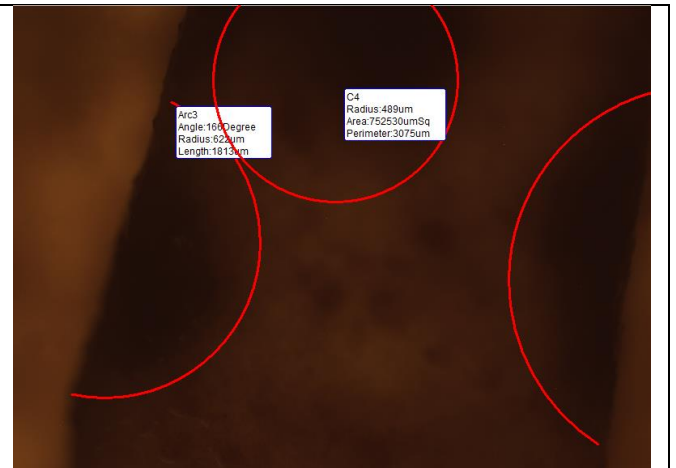
Fotografía 22. Observación del diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de *Porphyra* sp. con fertilizantes al 50%






Fotografía 23. Observación del diámetro de crecimiento de la fase Conchocelis de *Porphyra* sp. con fertilizantes al 100%






Anexo 14. Resultados del análisis Físico – Químico de agua de mar, Pisco, Ica-Perú



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE INGENIERÍA AGRÍCOLA
 DEPARTAMENTO DE RECURSOS HÍDRICOS DRH
LABORATORIO DE AGUA, SUELO, MEDIO AMBIENTE Y FERTIRRIEGO
 Av. La Molina s/n. Telf.: 614 7800 Anexo 226 / 349 3969 Lima. E-mail: las-fla@lamolina.edu.pe



Nº 005077


**ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO
DE AGUA**

Cod. Original: 4172

SOLICITANTE : GUIDO GERONIMO MALDONADO
PROYECTO : "PROGRAMA PARA LA GENERACIÓN DE SEMILLAS DE "COCHAYUO" PORPHYRA SPP PARA LA INDUSTRIA DE PANIFICACIÓN"
UBICACIÓN : Pisco
RESP. DE ANÁLISIS : Ing. Nore Arévalo Flores
FECHA DE ANÁLISIS : La Molina, 15 de noviembre de 2018

Nº LABORATORIO		5077
Nº DE CAMPO		Agua de mar
Alcalinidad total	$\text{mg CaCO}_3 \text{ l}^{-1}$	207.83
Nitratos	mg l^{-1}	0.00
DQO	$\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$	464.65
Fosforo soluble	mgP l^{-1}	0.00
Nitrógeno	$\text{N-NH}_3 \text{ l}^{-1}$	0.63
Bicarbonato	$\text{mgHCO}_3 \text{ l}^{-1}$	253.56

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUA Y SUELO



Dra. Rocio Pastor Jáuregui
JEFA DE LABORATORIO

