UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera

"Adaptación de tecnología de cultivo de la macroalga *Lessonia nigrescens* en medio controlado, laboratorio de investigación acuícola Ilo-2019"

TESIS

Presentada por:

Bach. Dervin Luis Muñoz Alanoca

Para optar el Título Profesional de

INGENIERO PESQUERO

TACNA – PERÚ
2022

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA

TESIS:

"ADAPTACIÓN DE TECNOLOGÍA DE CULTIVO DE LA *MACROALGA Lessonia nigrescens* EN MEDIO CONTROLADO, LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN ACUÍCOLA ILO-2019"

SUSTENTADO Y APROBADO EL 15 DE SETIEMBRE DEL 2022, CUYO JURADO CALIFICADOR ESTÁ INTEGRADO POR:

Presidente : .....
Dr. Julio César Isique Calderón

Secretario : .....
Dr. Luis Alberto Bernardo Rivera Chipana

Vocal : .....
Ing. Nikita Iván Morales Cabrera

Asesor : .....
Dr. Freddy Walter Delgado Cabrera

"AÑO DE LA UNIDAD, LA PAZ Y EL DESARROLLO"

CONSTANCIA

Mediante la presente, el suscrito en calidad de asesor de tesis deja constancia que mediante el informe de TURNITIN, aplicado a la tesis ""ADAPTACIÓN DE TECNOLOGÍA DE CULTIVO DE LA MACROALGA *Lessonia nigrescens* EN MEDIO CONTROLADO, LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN ACUÍCOLA ILO-2019", del Bach. Dervin Luis Muñoz Alanoca, para obtener el Título profesional de Ing. Pesquero, por la Universidad Nacional Jorge Basadre. En donde arrojó un grado de similitud de 9 %, estando dentro de los cánones permitidos dentro de la directriz Universitaria. En tal sentido, al estar dentro del rango permitido, la tesis se encontraría expedita en lo que corresponde en originalidad; ello a efectos de continuar con trámites que hubiera ha lugar.

Todo lo expuesto se deja constancia para los fines pertinentes.

Tacna, 29 de enero del 2023

Atentamente

_____

Dr. Freddy Walter Delgado Cabrera
Asesor de tesis
DNI: 00402673

Dedicatoria

A Dios, por darme vida, salud y por permitirme conocer a personas idóneas durante todo mi periodo de estudio

A mis padres por inculcarme valores que han sido fundamental en mi formación.

A mi hijo que es el motor y motivo para culminar mi carrera profesional.

A mi familia en general, por brindarme siempre su apoyo.

Esta investigación lo dedico a todos quienes me acompañaron de una u otra manera en la realización del presente trabajo.

Agradecimiento

Mi agradecimiento especial a la MSc. Sheyla Amanda Zevallos Feria por su amistad incondicional, asesoramiento, revisión, orientación y guía en la realización de mi tesis. Asimismo, al Dr. Fredy Delgado Cabrera por ser mi asesor y guía

Al MSc. Ygor Sanz Ludeña, y al Ing. José Luis Mamani por brindarme la oportunidad de realizar mi tesis en la Sede Regional – Imarpe Ilo.

Al Ing. Roger Ayerbe, Ing. Vicente Castañeda, Ing. Alex Tejada, Ing. Alejandro Gonzales, Ing. Fernando Lope, Ing. Esau Calagua Ing. José Carlos Zapata profesionales del instituto del mar del Perú sede Ilo, por el apoyo, asesoramiento dentro y fuera del laboratorio de investigación acuícola.

A mis compañeros del Laboratorio de Investigación Acuícola por su apoyo en la realización de mi tesis.

Al Ing. Kiara Fuentes Espinoza por su persistente apoyo en la culminación de mi informe tesis.

A los docentes de la Universidad Nacional de Moquegua de la carrera profesional de Ingeniería Pesquera, por sus enseñanzas durante mi periodo de estudios.

Gracias a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de este proyecto.

Índice general

Carátula i
Hoja de jurados ii
Constancia de revisión de turnitin iii
Dedicatoria iv
Agradecimiento v
Índice general vi
Índice de tablas x
Índice de figuras xii
Resumen xiii
Abstract xv
Introducción 1
Capitulo I Planteamiento del problema 2
1.1. Descripción de la realidad problemática 2
1.2. Formulación del problema 4
1.2.1. Interrogante general 4
1.2.2. Interrogantes secundarias 4
1.3. Justificación e importancia 5
1.4. Objetivos 6
1.4.1. Objetivo general 6
1.4.2. Objetivos específicos 6
1.5. Hipótesis 6
1.5.1. Hipótesis general 6
1.5.2. Hipótesis específicas 7
Capítulo II 8
Marco teórico 8
2.1. Antecedentes del estudio 8

2.2. Bases teóricas 11
2.2.1. Las algas 11
2.2.2. Lessonia nigrescens 12
2.2.3. Habitad y aspectos ecológicos Lessonia nigrescens 13
2.2.4. Distribución Lessonia nigrescens 13
2.2.5. Cultivo de Macroalgas. 13
2.2.6. Luz 14
2.2.7. Fotoperiodo 14
2.2.8. Temperatura 15
2.2.9. Nutrientes 15
Capítulo III Marco metodológico 16
3.1. Lugar de ejecución 16
3.2. Tipo y diseño de la investigación 16
3.2.1. Tipo de Investigación 16
3.2.2. Diseño de la Investigación 17
3.3. Materiales y Equipos 17
3.3.1. Materiales de laboratorio. 17
3.3.2. Equipos de Laboratorio 18
3.3.3. Equipos para acondicionamiento de infraestructura 18
3.3.4. Material biológico 18
3.4. Operacionalización de variables 19
3.4.1. Variables independientes 19

3.4.2. Variables dependientes 19

3.5. Población y muestra 20
3.5.1. Población 20

3.5.2. Muestra 21

3.6. Métodos de recolección y adecuación de *Lessonia nigrescens* 21
3.7. Procedimientos 22
3.7.1. Diseño experimental 23

3.8. Técnicas e Instrumentos para la recolección de datos 27
3.8.1. Recolección y adecuación Lessonia nigrescens 27

3.8.2. Diagrama de flujo de las etapas de inducción de esporas 31

3.8.3. Diagrama de flujo de las etapas de germinación de esporas 32

3.8.4. Diagrama de flujo de las etapas de fertilidad 32

3.8.5. Registro de los parámetros abióticos en laboratorio 33

3.9. Técnicas para la presentación y análisis de datos 33
3.9.1. Metodología para Análisis Estadístico Descriptivo de los datos 33

3.9.2. Metodología para Análisis Estadístico de los datos 34

Capítulo IV Resultados 37

4.1. Inducción de esporas de *Lessonia nigrescens* 37
4.1.1. Estrés hídrico 37

4.1.2. Rehidratación 38

4.1.3. Esporulación 39

4.1.4. Recuento de esporas 39

4.1.5. Resultados de los tratamientos aplicados 40

4.2. Germinación de esporas de *Lessonia nigrescens* post esporulación 43
4.2.1. Inoculación 44

4.2.2. Fijación 45

4.2.3. Germinación 46

4.2.4. Resultados por estacionalidad 47

4.3. Fertilidad de *Lessonia nigrescens* 58
4.3.1. Desarrollo a gametofitos 59

4.3.2. Diferenciación de gametofitos 60

4.3.3. Fertilidad de gametofitos 61

4.3.4. Esporofitos iniciales. 62

4.3.5. Resultados del porcentaje de fertilidad de Lessonia nigrescens 63

Capítulo V Discusión 75
Conclusiones 77
Recomendaciones 78
Referencias bibliográficas 79
Anexos 84

Índice de tablas

Tabla 1. *Variables* 20
Tabla 2. *ANOVA de un factor.* 36
Tabla 3. *Resultados de reconteo de esporas de Lessonia nigrescens con el tratamiento (T1)* 41
Tabla 4. Resultados de reconteo de esporas de L. nigrescens con el tratamiento (T2). 42
Tabla 5. *Resultados de esporas germinadas en invierno.* 48
Tabla 6. *Resultados de esporas germinadas en otoño.* 49
Tabla 7. *Resultados de esporas germinadas en primavera.* 49
Tabla 8. *Resultados de esporas germinadas en verano.* 50
Tabla 9. *Prueba de Normalidad de los valores de germinación de Lessonia nigrescens en invierno.* 52
Tabla 10. Prueba de Normalidad de los valores de germinación de *Lessonia nigrescens* en otoño. 53
Tabla 11. *Prueba de Normalidad de los valores de germinación de Lessonia nigrescens en primavera.* 54
Tabla 12. *Prueba de Normalidad de los valores de germinación de Lessonia nigrescens en verano.* 55
Tabla 13. ANOVA de un factor de la germinación de *Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 6 – 10 cm.* 56
Tabla 14. *ANOVA de un factor de la germinación de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 11 – 15 cm.* 57
Tabla 15. *ANOVA de un factor de la germinación de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 16 – 20 cm.* 57
Tabla 16. *ANOVA de un factor de la germinación de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de >21cm.* 58
Tabla 17. *Resultados de fertilidad de gametofitos en invierno.* 64
Tabla 18. *Resultados de fertilidad de gametofitos en otoño.* 65
Tabla 19. *Resultados de fertilidad de gametofitos en primavera.* 65
Tabla 20. *Resultados de fertilidad de gametofitos en verano.* 66
Tabla 21. *Prueba de Normalidad de los porcentaje de fertilidad de Lessonia nigrescens en invierno.* 68
Tabla 22. *Prueba de Normalidad de los porcentajes de fertilidad de Lessonia nigrescens en otoño.* 69
Tabla 23. *Prueba de Normalidad de los porcentajes de fertilidad de Lessonia nigrescens en primavera.* 70

Tabla 24. *Prueba de Normalidad de los porcentajes de fertilidad de Lessonia nigrescens en verano.* 71
Tabla 25. *ANOVA de un factor del porcentaje de fertilidad de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 6 – 10 cm.* 72
Tabla 26. ANOVA de un factor del porcentaje de fertilidad de *Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 11 – 15 cm.* 73
Tabla 27. *ANOVA de un factor del porcentaje de fertilidad de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 16 – 20 cm.* 73
Tabla 28. *ANOVA de un factor del porcentaje de fertilidad de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de >21cm.* 74

Índice de figuras

Figura 1. *Lessonia nigrescens* 12
Figura 2. *Área de colecta de Lessonia nigrescens* 21
Figura 3. *Tratamientos de inducción de esporas de Lessonia nigrescens* 24
Figura 4. *Tratamientos en la germinación de esporas* 25
Figura 5. *Tratamientos en la germinación de esporas.* 26
Figura 6. *Diagrama del proceso de recolección y adecuación de Lessonia nigrescens.* 27
Figura 7. Colecta de *Lessonia nigrescens.* 29
Figura 8. *Selección, corte y lavado de Lessonia nigrescens.* 30
Figura 9. *Adecuación de frondas de L. nigrescens.* 31
Figura 10. *Diagrama del proceso de inducción de esporas de Lessonia nigrescens.* 31
Figura 11. Diagrama del proceso de inducción de esporas de *Lessonia nigrescens.* 32
Figura 12. *Diagrama del proceso de inducción de esporas de Lessonia nigrescens.* 32
Figura 13. *Distribución Normal.* 34
Figura 14. *Pesado y retirado de soros concluido el estrés.* 37
Figura 15. *Matraces para rehidratación.* 38
Figura 16. *Recuento de esporas liberadas en microscopio.* 40
Figura 17. Recuento de esporas (T1 y T2). 43
Figura 18. *Envases de inoculación.* 44
Figura 19. *Adaptación del sistema de cultivo.* 45
Figura 20. Fijación. 46
Figura 21. *Esporas germinadas al quinto día de cultivo.* 47
Figura 22. *Recuento de Esporas germinadas promedio de Lessonia nigrescens en 1cm^2 (5to día de cultivo).* 51
Figura 23. *Gametofitos de Lessonia nigrescens al noveno día de cultivo.* 59
Figura 24. *Diferenciación de gametofitos.* 60
Figura 25. *Fertilidad de gametofitos.* 61
Figura 26. *Esporofitos iniciales Lessonia nigrescens, muestra tomada el día 20 de cultivo.* 62
Figura 27. *Porcentaje de Fertilidad de Lessonia nigrescens (9no día de cultivo).* 67

Resumen

La presión extractiva de las algas marinas en el litoral de la región Moquegua ha generado conflictos y agotamiento del recurso, siendo evidente los impactos negativos sobre las poblaciones naturales, por tal motivo es que se desarrolló la presente investigación, como una alternativa viable de disponibilidad de plántulas para la recuperación de las poblaciones naturales, además de la difusión de la tecnología de cultivo en el sector pesquero artesanal. En este estudio, se adaptó la tecnología de cultivo de *Lessonia nigrescens* en medio controlado en el Laboratorio de Investigación Acuícola, provincia de Ilo durante el 2019. Se aplicó dos tratamientos, los cuales se diferenciaron por el tiempo expuesto a deshidratación de frondas reproductivas; además, el material reproductivo fue diferenciado por 4 rangos de talla según el diámetro de rizoide de planta (A: 6-10cm; B: 11-15cm; C: 16-20cm; D:>21cm), se evaluó el recuento de esporas, las esporas germinadas por estacionalidad y porcentaje de fertilidad por estacionalidad a través de la prueba ANOVA de un factor con un nivel de significancia de 0.05. Los resultados mostraron que el tratamiento (T1) tuvo un mejor desempeño en comparación con el tratamiento (T2), al poseer mayores valores de recuento de esporas en todos los diámetros de rizoide. Con respecto, a los resultados de germinación de esporas y porcentaje de fertilidad, se obtuvo valores mayores al nivel de significancia, por ende, existe una igualdad de medias en las todas las estaciones estudiadas.

Palabras clave: *Lessonia nigrescens, medio controlado, esporulación, germinación y fertilidad*

Abstract

The extractive pressure of seaweed on the coast of the Moquegua region has generated conflicts and depletion of the resource, the negative impacts on natural populations being evident, for this reason the present investigation was developed, as a viable alternative of availability of seedlings for the recovery of natural populations, in addition to the dissemination of cultivation technology in the artisanal fishing sector. In this study, the cultivation technology of *Lessonia nigrescens* was adapted in a controlled environment at the Aquaculture Research Laboratory, province of Ilo during 2019. Two treatments were applied, which were differentiated by the time exposed to dehydration of reproductive fronds; In addition, the reproductive material was differentiated by 4 size ranges according to the diameter of the plant rhizoid (A: 6-10cm; B: 11-15cm; C: 16-20cm; D:> 21cm), the spore count was evaluated, germinated spores by seasonality and fertility percentage by seasonality through the one-factor ANOVA test with a significance level of 0.05. The results showed that the treatment (T1) had a better performance compared to the treatment (T2), having higher spore count values in all rhizoid diameters. Regarding the results of spore germination and fertility percentage, values higher than the level of significance were obtained, therefore, there is an equality of means in all the stations studied.

Keywords: Lessonia nigrescens, controlled medium, sporulation, germination and fertility.

Introducción

La acuicultura ha sido desencadenante del crecimiento de recursos hidrobiológicos (FAO, 2018) frente una problemática de excesiva extracción de algas en el litoral marino peruano. Sin embargo, la poca falta de difusión de dicha tecnología de cultivo, ha mermado los posibles impactos positivos en el acceso de recursos hidrobiológicos, recuperación de diversidad y repoblación.

En el Perú, la colecta y acopio de algas marinas en el litoral peruano sustenta alrededor de 1,900 familias (IMARPE, 2012), siendo mayores los impactos negativos que suscitarían frente a la escasez de dichos recursos, afectando no solo a las personas consumidoras sino también a las que depende de la extracción de los mismos.

Por tal motivo, la presente investigación busca establecerse como una alternativa viable de disponibilidad de plántulas para la recuperación de las poblaciones naturales, además de la difusión de la tecnología de cultivo en el sector pesquero artesanal (pescadores artesanales, recolectores algueros) para motivar el manejo sostenible y el sentido de responsabilidad con el cuidado del ambiente marino, a través del cultivo de *Lessonia nigrescens* en un medio controlado durante el año 2019, evaluando la esporulación, germinación y porcentaje de fertilidad a través de las diferentes estaciones del año.

Capítulo I

Planteamiento del problema

1.1. Descripción de la realidad problemática

A nivel mundial, durante el periodo del 2015 al 2016 se produjo una reducción de capturas de los recursos hidrobiológicos, con una disminución de 21,1% de las capturas, indicando una disminución de 1 millón de TM aproximadamente (FAO, 2018). En el Perú, el acceso a los recursos hidrobiológicos procede principalmente de dicha actividad extractiva; la cual entre 2017 al 2018 presentó un leve incremento con un alza de 7,5 %, representado por 54,1 mil TM desembarcadas adicionalmente; mientras que el desembarque de algas durante el 2017 alcanzó 89 mil TM.

Por otro lado, la acuicultura ha sido durante el periodo de 1950 a 2016 la desencadenante del crecimiento de recursos hidrobiológicos para el consumo del hombre, alcanzando las cifras de incremento de 170,9 millones de toneladas; de las cuales 30 millones de toneladas corresponden a la producción de algas por acuicultura, y que fueron destinadas exclusivamente al consumo humano directo (FAO, 2018). Sin embargo, en el Perú, presentó un débil crecimiento en su

producción desde el 2013 hasta el 2015, influenciada principalmente por la disminución de la producción de concha de abanico (PRODUCE, 2018).

La colecta y acopio de algas marinas en el litoral peruano sustenta alrededor de 1,900 familias; al constituirse como la principal fuente de ingresos económicos, cuya extracción alcanzó 31 783 TM a nivel nacional (PRODUCE, 2016); entre las algas pardas distribuidas en la costa sur de nuestro país (Regiones Ica, Arequipa, Moquegua y Tacna) destaca la presencia de la macroalga parda *Lessonia nigrescens* distribuida en la zona inter-marial (IMARPE, 2012).

Sin embargo, la presión extractiva ilegal ha generado conflictos y agotamiento del recurso, siendo evidente el incremento de la extracción de algas en el Perú con sus inevitables impactos negativos sobre las poblaciones naturales, quienes cumplen el doble rol fundamental por constituirse organismos ingenieros estructuradores (hábitat y refugio de otras especies en sus etapas juveniles) (Villouta y Santelices 1984) y recursos de consumo para la industria de alginatos (Vera, 2014)

Es así que, la acuicultura se presenta como una alternativa adecuada que aún no se desarrolla en la región Moquegua y que el IMARPE a través de un proyecto "Desarrollo de un paquete tecnológico de cultivo de macroalgas (*Lessonia trabeculata, Lessonia nigrescens y Macrocystis pyrifera*) en medio natural (zona marina) para su aplicación técnica por pescadores y productores acuícolas de Ilo – Moquegua" financiado por INNOVATE (código N° IAPIP-1-P-013-16) viene

implementando a nivel experimental con las especies *Lessonia nigrescens, Lessonia trabeculata y Macrocystis piryfera* en el Laboratorio de Investigación Acuícola; donde se propone adaptar la tecnología de cultivo de *Lessonia nigrescens* en medio controlado con la finalidad de proponer una alternativa viable de disponibilidad de plántulas para la recuperación de las poblaciones naturales, además de la difusión de la tecnología de cultivo en el sector pesquero artesanal (pescadores artesanales, recolectores algueros) para motivar el manejo sostenible y el sentido de responsabilidad con el cuidado del ambiente marino.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Interrogante general

¿Es posible adaptar la tecnología de cultivo de la macroalga *Lessonia nigrescens* en medio controlado?

1.2.2. Interrogantes secundarias

a. ¿Será posible aplicar la técnica de inducción de esporas de *Lessonia nigrescens* en medio controlado?
b. ¿Sera posible comparar la viabilidad de germinación de esporas post esporulación en función de la estacionalidad?
c. ¿Será posible comparar la fertilidad de *Lessonia nigrescens* en función a la estacionalidad?

1.3. Justificación e importancia

Las macroalgas son de gran importancia económica gracias al contenido de ácido algínico, ampliamente utilizadas en la industria alimenticia, cosmética, textil y farmacéutica (Rees, 1986). Cumplen un importante rol ecológico, al ser refugio de invertebrados marinos gracias a la protección que otorga el disco de fijación, además, constituye un lugar de asentamiento de estadios tempranos de invertebrados marinos y peces siendo utilizado como alimento por invertebrados (Cancino & Santelices, 1984).

Debido a los cambios generados por la excesiva extracción de recursos marinos a nivel nacional, estas han disminuido; por lo que la acuicultura se ha convertido en el soporte de recursos hidrobiológicos consumidos por el hombre de manera directa o indirecta en el mundo (FAO, 2018); en esa medida, la recolección artesanal de algas marinas ha sido sustituida en diferentes costas a nivel mundial por el cultivo controlado de algas (Edding y Tala, 2003).

Existen experiencias de cultivo de macroalgas realizadas en Chile enfocadas a *Lessonia nigrescens, Lessonia trabeculata* y otras macroalgas en medio controlado; evidenciando una serie de ventajas, tales como la estabilización del abastecimiento de materia prima en forma continua para el desarrollo industrial; representa una alternativa para diversificar los ingresos de los pescadores; adicionalmente, ofrece la oportunidad de mejorar los rendimientos y calidad de productos extraídos mediante selección y técnicas de cultivo (Zertuche,1989).

Por estas consideraciones, desarrollar el cultivo de *Lessonia nigrescens* a escala experimental permitirá contribuir con el conocimiento de su tecnología de cultivo que podrá ser transferida al sector pesquero artesanal para acceder a la disponibilidad de plántulas y como alternativa de manejo y cuidado del ambiente marino.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Adaptar la tecnología de cultivo de la macroalga *Lessonia nigrescens* en medio controlado.

1.4.2. Objetivos específicos

a. Aplicar la técnica de inducción de esporas de *Lessonia nigrescens*
b. Comparar la viabilidad de germinación de esporas post esporulación en función de la estacionalidad.
c. Comparar la fertilidad de *Lessonia nigrescens* en función a la estacionalidad.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis general

La tecnología de cultivo de macroalgas pardas es factible de ser implementada en *Lessonia nigrescens* bajo condiciones controladas en el Laboratorio de Investigación Acuícola, provincia de Ilo durante el 2019.

1.5.2. Hipótesis específicas

a. Es posible aplicar la técnica de inducción de esporas de *Lessonia nigrescens* para la esporulación en laboratorio.
b. La viabilidad de germinación de esporas post esporulación depende de la variación estacional.
c. La viabilidad de la fertilidad de *Lessonia nigrescens* depende de la variación estacional.

Capítulo II

Marco teórico

2.1. Antecedentes del estudio

Fonck, Venegas, Tala y Edding (1998) en su investigación acerca de "Inducción artificial de la esporulación en *Lessonia* (Phaeophyta,Laminariales)"; usó dos métodos en el proceso de enjuague de los soros reproductivos para inducir artificialmente a esporulación, aplicándoles tres tiempos distintos de desecación por exposición al aire (6,12 y 18 hrs) aplicando agua de mar filtrada y agua potable para dos especies de macroalgas: *Lessonia nigrescens* y *Lessonia trabeculata;* cuyos resultados evidenciaron que el tratamiento con agua potable dio mejores resultados con densidades de esporulación mayores en comparación a la esporulación con agua de mar filtrada y que los periodos de tiempo por desecación al aire que tuvieron mejores resultados fueron 6 y 12 horas.

Vázquez y Tala (1995) en su investigación acerca de "Repoblación de áreas inter-mareales con *Lessonia nigrescens* en el norte de Chile*";* da entender en sus resultados que es factible y practico la repoblación de zonas inter-mareales, donde no se haya encontrado rastros de la especie *Lessonia nigrescens,* aplicando desecación de frondas reproductivas para luego inducirlas a esporulación al

rehidratarlas en el mar y así lograr su desarrollo hasta plántulas, dando a entender que esta actividad puede ser realizada por una persona sin entrenamiento especial.

Edding y Tala (2003) en su investigación acerca de "Desarrollo de técnicas para el cultivo de *Lessonia trabeculata* Villouta y Santelices (Phaeophyceae: Laminariales) en Chile". Desarrolló técnicas de cultivo de macroalgas (*Lessonia trabeculata*) aplicando medio nutritivo Provasoli en etapas iniciales de cultivo: germinación de esporas, gametofitos y desarrollo a esporofitos. Por otro lado, aplicando agua de mar de manera directa sin medio nutritivo, no obtuvo buenos resultados.

Tellier, Meynard, Correa c, Faugeron y Valero. (2009) en su investigación acerca de "Phylogeographic analyses of the 30°S south-east Pacific biogeographic transition zone establish the occurrence of a sharp genetic discontinuity in the kelp *Lessonia nigrescens*: Vicariance or parapatry? En su metodología explica que una vez las frondas reproductivas inducidas a esporulación, las esporas móviles tienen un tiempo de vida útil muy corto, quiere decir que tienen una capacidad muy corta para adherirse a cualquier tipo de sustrato en un tiempo no mayor a 24 horas.

Hoffmann, Ávila y Santelices (1982) En su investigación acerca de "Interacciones de temperatura, densidad de flujo fotónico y fotoperíodo sobre el desarrollo de etapas microscópicas de *Lessonia nigrescens* (Phaeophyta,

Laminariales)" Los estudios ya realizados sobre el desarrollo de fases microscópicas de *Lessonia nigrescens* indican que mientras la germinación de meiosporas "es independiente de la adición de nutrientes al medio, los distintos patrones de desarrollo de los gametofitos, la fertilidad y las primeras etapas de desarrollo de los esporofitos tienen requerimientos definidos de nutrientes, el fotoperiodo más adecuado para la diferenciación de ogonios es el de 12 h,12h.

Murúa (2010) en su investigación acerca de "Estudios de los requerimientos de irradiancia y temperatura para las etapas mircroscopicas de *Lessonia trabeculata* (Phaeophyceae; Laminareales) de poblaciondes del norte y sur de Chile" la investigacion realizada sobre *Lessonia trabeculata* no presenta diferencias para los requerimientos de irradiancia y temperatura ni para etapas precigóticas, ni para la formación de cigotos y crecimiento de esporofitos. Sin embargo, el crecimiento varió entre las distintas localidades estudiadas. A su vez, los factores que afectaron el desarrollo de estadios tempranos de *Lessonia trabeculata* fueron la localidad de origen, la estación del año y el efecto interactivo luz-temperatura. El desarrollo de *Lessonia trabeculata* para las etapas del ciclo de vida iniciales ocurre de manera similar que para otras algas Laminariales. Las condiciones óptimas para la germinación, fertilidad y éxito reproductivo variaron entre 10-70 µE m^{-2} s^{-1} y 10 – 15 °C, dependiendo de la localidad y época de origen del material reproductivo. Los máximos valores de estos índices fueron registrados en primavera, y los mínimos en otoño con viabilidad prácticamente nula de las esporas.

Ruiz (2012) en su trabajo de investigación acerca de “Viabilidad en el desarrollo de esporas de *Lessonia nigrescens* Boryi en relacion a estacionalidad y procedencia, Norte y Sur de Chile” indica que en la germinación de esporas la localidad de origen influye en ese proceso y no la estacionalidad. Mientras que para la tasa de crecimiento es influenciada por la localidad y la estacionalidad del año. Los estadios iníciales de *Lessonia nigrescens* son similares a los descritos para otras Laminariales y los tiempos de formación de esporofitos mostraron tendencias estacionales siendo mayores en primavera- verano y óptimos en otoño.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Las algas

Las algas son un grupo heterogéneo de organismos vegetales, unas 50.000 especies de macroalgas, entre los que se cuentan desde especies unicelulares hasta plantas que pueden medir sobre 50 metros. Viven en dos tipos de condiciones muy distintas; unas lo hacen flotando en las capas más superficiales del agua, son unicelulares y se las conoce con el nombre de algas plantónicas; las otras viven adheridas a rocas u otros sustratos, y se las conoce con el nombre de algas bentónicas (Santelices, 1991)

En Chile país vecino de Perú existen aproximadamente 550 especies de algas bentónicas, aunque las conocidas ampliamente por la población representan menos del 1% de ellas. Las especies más comunes son exportadas como materia

prima, usadas internamente en las industrias de alginatos y agar, y en menor grado consumidas como alimentos (Chapman & Chapman, 1980).

2.2.2. Lessonia nigrescens

La macroalga es de color verde parduzco o casi negro que alcanzan de 3 a 4 m de longitud. Presentan un rizoide del cual surgen uno o más ejes principales. El estípite principal es notoriamente aplanado desde la base, mide de 1.5 a 3 cm de diámetro y se divide en un mismo nivel varias veces más. Las láminas son lisas de borde entero, ondulado o con dientes romos. Las plantas solo presentan una lámina por eje cuando son juveniles (Acleto, 1986; Acleto y Zúñiga, 1998).

Forma densos cinturones la zona intermareal y submareal somera de playas rocosas preferentemente en zonas expuestas al oleaje (Hoffman y Santelices, 1997).

Figura 1.

Lessonia nigrescens

Nota: Hoffman y Santelices (1997)**.**

2.2.3. Habitad y aspectos ecológicos Lessonia nigrescens

Forma densos cinturones en la zona intermareal y submareal somera de playas rocosas preferentemente en zonas expuestas al oleaje (Hoffman y Santelices, 1997). Las praderas formadas por esta especie, del mismo modo que *M. pyrifera*, modifican la estructura y funcionamiento de la biodiversidad en los sistemas costeros someros donde se desarrollan, siendo considerados ingenieros ecosistémicos estructuradores de hábitats que proveen sustrato para el asentamiento larval, reclutamiento de juveniles, refugio (Romero et al, 1988) y hábitat para un gran número de especies de macroinvertebrados y peces (Villoouta y Santelices 1984, Vásquez & Santelices 1984, Vásquez Et Al. 2001, Vásquez 2004).

2.2.4. Distribución Lessonia nigrescens

Se encuentra distribuida en Sudamérica en la costa del Océano Pacífico, desde Mollendo (17° S), en Perú, hasta el cabo de Hornos (55° 59’ S), en Chile (Ramírez & Santelices, 1991)

2.2.5. Cultivo de Macroalgas.

El cultivo macroalga busca la obtención de plántulas en laboratorio mediante la adecuación de técnicas aplicadas por otros investigadores y requieren de determinados factores ambientales y nutricionales.

2.2.6. Luz

Las algas absorben la luz y utilizan su energía para fabricar moléculas de azúcar y producir oxígeno a partir de dióxido de carbono (CO2) y agua (H2O), en un proceso denominado fotosíntesis. Es una habilidad de las algas para absorber y utilizar la luz en las reacciones fotoquímicas se debe a que ellas poseen pigmentos fotosintéticos como las clorofilas, capaces de captar y conducir la energía de la luz hacia la maquinaria fotosintética.

Si la luz no es insuficiente, el alga no obtiene suficiente energía para el crecimiento. Una exagerada iluminación es perjudicial para el alga, es inhibitoria para el crecimiento y daña los tejidos. Es la llamada foto inhibición o foto inactivación definida como un descenso de la capacidad fotosintética provocado por elevadas intensidades de luz, implicando la foto destrucción de pigmentos fotosintéticos. Los efectos dañinos de la iluminación pueden ser intensificados por otros factores, como deficiencia de nutrientes o temperatura elevadas. (Edding y Tala, 2003)

2.2.7. Fotoperiodo

Es la cantidad de horas de luz que recibe un organismo al día, siendo una medida la alternancia natural (u artificial) día/noche a la que están sometidas las algas, lo cual incide sobre los procesos de vida diarios de las algas y que generalmente son reproducidos para su cultivo (Edding y Tala, 2003).

2.2.8. Temperatura

La temperatura es una medida del calor dentro de un sistema y es expresado en ºC en la escala de Celsius o en K en la escala de Kelvin.

El calor es la energía del movimiento molecular. Es así como la temperatura regula la velocidad de los procesos biológicos a través de la actividad metabólica. Dentro del rango de tolerancia de cada especie. (Edding y Tala, 2003)

2.2.9. Nutrientes

Son los compuestos inorgánicos que absorben las algas directamente del agua a través de la superficie de toda la planta, a partir de los cuales las algas sintetizan todos los elementos necesarios para su crecimiento y desarrollo.

Existen nutrientes esenciales aquellos cuya ausencia provocan una imposibilidad de las algas en crecer, o completar su desarrollo.

Además, los nutrientes requeridos en mayores concentraciones son los nitratos y fosfatos. A estos se suma la necesidad de nutrientes tales como el hierro, metales y vitaminas. (Edding y Tala, 2003)

Capítulo III

Marco metodológico

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizará en un ambiente controlado del Laboratorio de Investigación Acuícola del Instituto del Mar del Perú- sede Ilo.

3.2. Tipo y diseño de la investigación

3.2.1. Tipo de Investigación

El tipo de investigación que se desarrolló en el presente estudio fue *experimental* ya que serán ejecutados una serie de experiencias en laboratorio con diferentes tratamientos bajo condiciones controladas.

Considerando que los estudios experimentales, consisten en someter un grupo de individuos a diversas condiciones o tratamientos (variable independiente) con el objetivo de observar los efectos producidos (variable dependiente) (Arias, 2006).

3.2.2. Diseño de la Investigación

En cuanto al diseño de la investigación, se tomó la clasificación de Arias (2006), quien los divide en: preexperimental, cuasiexperimental y experimental puro.

A causa de la finalidad del presente estudio se consideró el diseño *experimental puro*, el cual cumple con dos requisitos, el empleo de grupos de comparación y la equivalencia de grupos mediante la selección al azar (Arias, 2006).

3.3. Materiales y Equipos

3.3.1. Materiales de laboratorio.

Vaso de precipitado marca Pyrex de 100ml, 250ml y de capacidad.

Tubo de ensayo PYREX con labio

Destilador de agua. Marca: GFL. Capacidad: 2 litros/ 2 horas.

- Papel toalla Elite
- Pipeta serológica marca PYREX de, 5ml y 10 ml de capacidad
- Matraz Erlenmeyer, graduado Pyrex de 2L de capacidad.
- Porta y cubre objetos
- Placas Petri marca Pyrex
- Pizeta de plástico de 500 ml
- Envases de plástico de 50 L de capacidad

- Cámara de neubauer
- Cuerdas de nylon o driza de 3mm de diámetro
- Tubos de PBC
- Cooler grande
- Nutrientes (Provasoli) a prepararse según instrucciones.
- Alcohol
- Agua destilada

3.3.2. Equipos de Laboratorio

- Oxímetro.
- Termómetro
- PH metro
- Luxómetro digital
- Microscopio binocular
- Mechero de Bunsen

3.3.3. Equipos para acondicionamiento de infraestructura

- Aireador.
- Esterilizador UV.
- Filtros de cuno de 1, 5 y 10 micras.
- 12 lámparas (fluorescente). 2000 a 2500lux

3.3.4. Material biológico

- *Lessonia nigrescens en estado de fertilidad.*

3.4. Operacionalización de variables

Las variables de una investigación son una característica, ya sea cualidad o magnitud que puede sufrir cambios o que es objeto de análisis. Se clasifican en independiente (causa) y dependiente (efecto) (Arias, 2006).

En la presente investigación se tomaron en consideración las siguientes variables de estudio:

3.4.1. Variables independientes

- Técnica de inducción aplicada al tejido reproductivo de *Lessonia nigrescens*.
- Estacionalidad (otoño, invierno, primavera, verano).

3.4.2. Variables dependientes

- Cantidad de esporas liberadas.
- Germinación de esporas post inoculación.
- Fertilidad de ***Lessonia nigrescens***.

Tabla 1.

Variables

Variables	
Independientes	Técnica de inducción aplicada al tejido reproductivo de *Lessonia nigrescens*
	Estacionalidad (otoño, invierno, primavera, verano)
Dependientes	Cantidad de esporas liberadas
	Germinación de esporas post inoculación
	Fertilidad de *Lessonia nigrescens*

Nota: Propia del autor.

3.5. Población y muestra

3.5.1. Población

La población estará constituida por las frondas reproductivas de la macroalga *Lessonia nigrescens* colectadas mensualmente en la zona intermareal de fondo duro del litoral de Ilo, entre la caleta Corralitos (LS 17°41’32,9” y LO 71°22’25,1”) y Playa Gentilares (LS 17°41’32,9” y LO71°22’25,1”)

Figura 2.

Área de colecta de Lessonia nigrescens

Nota: Elaboración Propia.

3.5.2. Muestra

Constituida por 100 gramos de soros provenientes de las esporofilas de *Lessonia nigrescens* seleccionadas mensualmente, para la aplicación de técnicas de esporulación.

3.6. Métodos de recolección y adecuación de *Lessonia nigrescens*

A través de la extracción manual y por buceo apnea en zona intermareal y submareal utilizando un vernier se realiza la medición del diámetro de rizoide y dependiendo del diámetro de rizoide se realiza el corte de las frondas reproductivas por cada uno de los rangos de diámetro, ya en tierra las frondas reproductivas se realiza una selección y corte de los soros reproductivos, realizando un tratamiento

con agua de mar tratada con luz UV y agua destilada. Luego se realiza la adecuación de los soros reproductivos para su traslado.

3.7. Procedimientos

Los procedimientos a utilizar son:

- **Colecta:** Son frondas cortadas de los reproductores en medio natural para su posterior selección y corte de soros.
- **Selección y corte:** Es la parte donde se tiene que diferenciar los rangos de frondas extraídas de medio natural para su posterior tratamiento.
- **Adecuación para el estrés hídrico**: Una vez realizada la diferenciación, corte, lavado y escurrido de los soros reproductivos, se procede a una adecuación dentro de un cooler con papel toalla y gel pack para mantener una temperatura de 10 °C en el interior del cooler, y a su vez, por efecto de las bajas temperaturas producir una deshidratación de los soros por frio.
- **Estrés hídrico:** Es el tiempo de exposición de los soros a bajas temperaturas por un tiempo determinado.
- **Rehidratación:** Es el proceso de que fronda reproductiva ya deshidratada, estresada pueda sus introducir o absorber líquido por un proceso de osmosis y del mismo modo se realice el proceso de esporulación.

3.7.1. Diseño experimental

Aplicar técnica de inducción de esporas de *L. nigrescens*

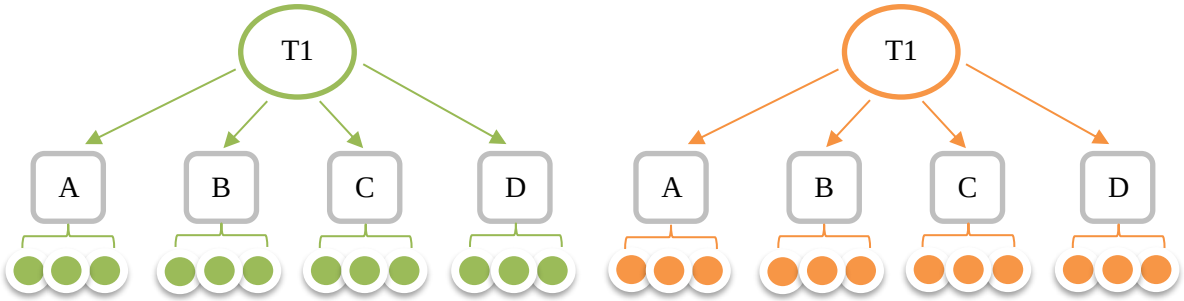
Se aplicaron dos tratamientos, los cuales se diferenciaron por el tiempo expuesto a deshidratación de las frondas reproductivas; además, el material reproductivo fue diferenciado en 4 rangos de talla según el diámetro de rizoide de planta (A: 6-10; B: 11-15; C: 16-20; D:>21) en estado de fertilidad y a su vez cada rango de talla tendrá tres repeticiones.

Tratamientos:

- **Tratamiento 1(T1):** El estrés hídrico por 2 horas a una temperatura de 10C°, se pesó los soros reproductivos y se rehidrató en oscuridad para inducir a esporular. Luego de una hora se realizaron 3 recuentos en la cámara de Neubauer de la cantidad de esporas liberadas.
- **Tratamiento 2(T2):** El estrés hídrico por 6 horas a una temperatura de 10C°, se pesó los soros reproductivos y se rehidrató en oscuridad para inducir a esporular. Luego de una hora se realizaron 3 recuentos en la cámara de Neubauer de la cantidad de esporas liberadas

Figura 3.

Tratamientos de inducción de esporas de Lessonia nigrescens



Nota: Elaboración Propia.

Donde:

T1: tratamiento uno con dos horas de estrés hídrico.

T2: tratamiento dos con 6 horas de estrés hídrico.

A: rango de rizoide (06-10 cm)

B: rango de rizoide (11-15 cm)

C: rango de rizoide (16-20 cm)

D: rango de rizoide (21 a +)

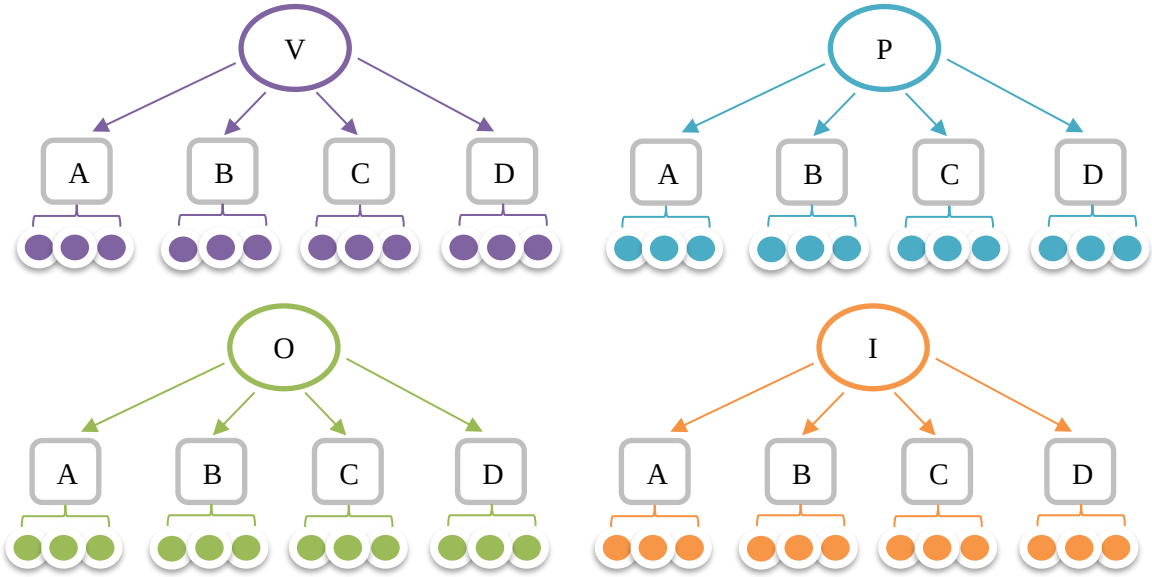
Viabilidad de germinación de esporas post esporulación

Después de seleccionar la técnica más efectiva para inducir a la liberación de esporas. Se aplicó la técnica durante las cuatro estaciones del año (O: Otoño, I: invierno, P: primavera y V: verano) para comparar la viabilidad de germinación en

función de la estacionalidad por cada rango de diámetro de rizoide con sus tres repeticiones correspondientes.

Figura 4.

Tratamientos en la germinación de esporas



Nota: Elaboración Propia.

Donde:

O: Estación de otoño

I: Estación de Invierno

P: Estación de Primavera

V: Estación de Verano

A: rango de rizoide (06-10 cm)

B: rango de rizoide (11-15 cm)

C: rango de rizoide (16-20 cm)

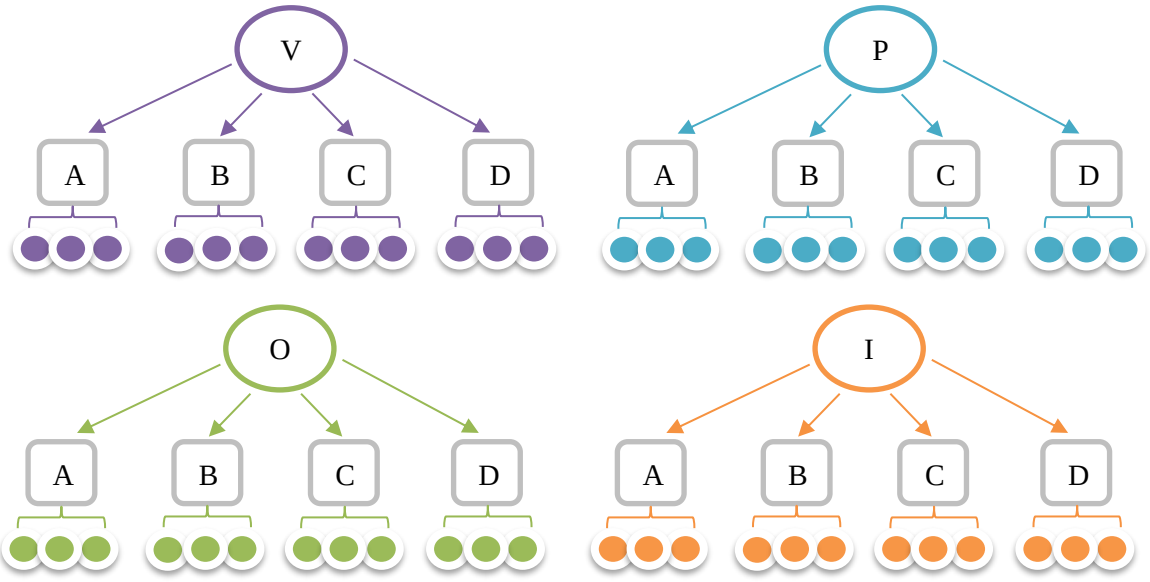
D: rango de rizoide (21 a +)

Viabilidad de fertilidad de *Lessonia nigrescens*

La fertilidad fue comparada durante las cuatro estaciones del año (O: Otoño, I: invierno, P: primavera y V: verano) considerando tres repeticiones por cada rango de diámetro de rizoide.

Figura 5.

Tratamientos en la germinación de esporas.



Nota: Elaboración Propia.

Donde:

O: Estación de otoño

I: Estación de Invierno

P: Estación de Primavera

V: Estación de Verano

A: rango de rizoide (06-10 cm)

B: rango de rizoide (11-15 cm)

C: rango de rizoide (16-20 cm)

D: rango de rizoide (21 a +)

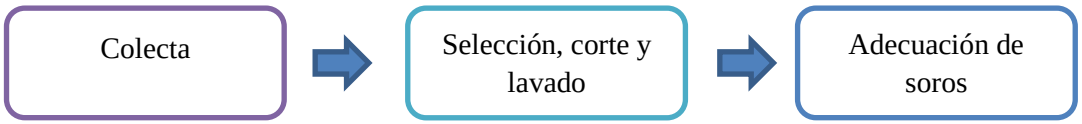
3.8. Técnicas e Instrumentos para la recolección de datos

3.8.1. Recolección y adecuación Lessonia nigrescens

Los métodos desarrollados en la presente investigación se detallan a continuación:

Figura 6.

Diagrama del proceso de recolección y adecuación de Lessonia nigrescens.



Nota: Elaboración Propia.

Colecta

La coleta de *Lessonia nigrescens* se realizó en la bahía de corralitos encontrándose distribuido en zona intermareal. Se procedió a realizar el reconocimiento de zona intermareal de la bahía.

Se colectaron las frondas reproductivas teniendo en cuenta 4 rangos en base al diámetro rizoides (6-10, 11-15, 16-20, 20 a + cm), para ello se utilizó el algometro tomando como medida el diámetro del disco rizoidal, con punto referencia la parte más ancha de su perímetro.

Cabe resaltar que se seleccionaron las macroalgas en estado de fertilidad, diferenciadas por rango de diámetro de rizoide, las cuales se identificaron por unas manchas oscuras distribuidas en sus frondas, llamadas soros.

Además, se procedió a cortar las frondas fértiles o también llamadas esporofilas, utilizando un cuchillo y fueron trasladadas para su selección, reconocimiento y corte de soros en una bolsa de malla anchovetera (chinguillo).

Finalmente, se registraron los parámetros abióticos como temperatura superficial del mar e intensidad de luz ambiental; y se colectó muestras de agua para la determinación de oxígeno disuelto, salinidad y nutrientes en el laboratorio de Oceanografía del IMARPE Ilo.

Figura 7.
Colecta de *Lessonia nigrescens.*

Nota: Elaboración Propia.

Selección, corte y lavado

Se procedió a seleccionar los soros según el rango de diámetro de rizoide, luego se cortó la parte reproductiva de la macroalga *Lessonia nigrescens* con ayuda de unas tijeras, luego se procedió a lavar con una brocha de cerdas suaves y con agua de mar tratada por luz UV eliminando epifitos o algunos otros organismos que no son de ayuda para el cultivo; finalmente, se dejó escurriendo por 5 minutos.

Figura 8.

Selección, corte y lavado de Lessonia nigrescens.

Nota: Elaboración Propia.

Adecuación de soros dentro de una caja isotérmica

Después del escurrido de los soros se procedió a adecuarlos dentro de una caja isotérmica con gel pack en la parte inferior, cubierta con una lámina de papel aluminio, y papel toalla, encima del papel toalla van distribuidos los soros y nuevamente papel toalla con soros reproductivos diferenciados por el papel aluminio según el rango de diámetro de rizoide. Al finalizar se colocó papel aluminio, gel pack y se procedió a cerrar la caja isotérmica.

Figura 9.

Adecuación de frondas de L. nigrescens.

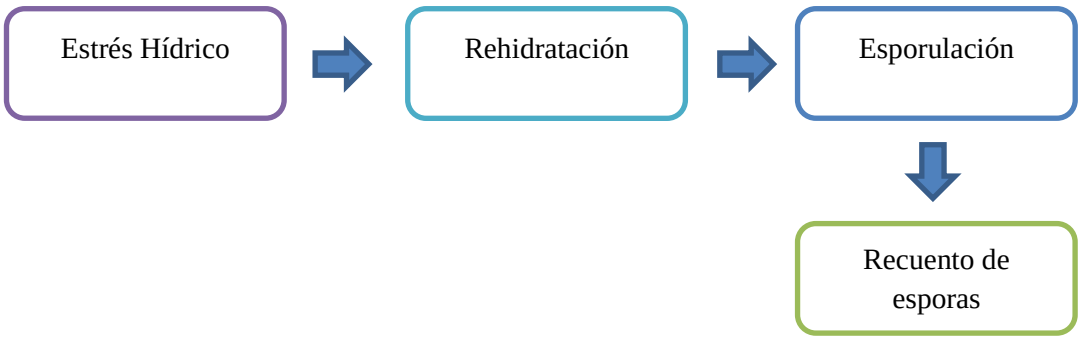
Nota: Elaboración Propia.

3.8.2. Diagrama de flujo de las etapas de inducción de esporas

Para la presente investigación se consideró las siguientes etapas:

Figura 10.

Diagrama del proceso de inducción de esporas de Lessonia nigrescens.



Nota: Elaboración Propia.

3.8.3. Diagrama de flujo de las etapas de germinación de esporas

Para la presente investigación se consideró las siguientes etapas:

Figura 11.

Diagrama del proceso de inducción de esporas de *Lessonia nigrescens.*

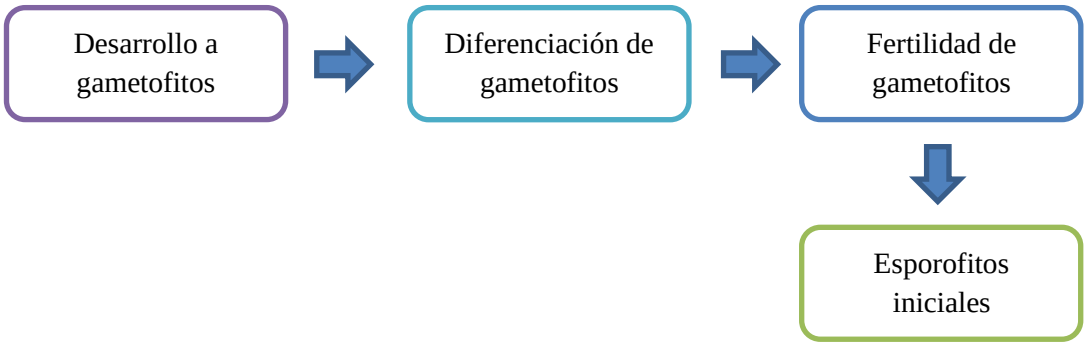
Nota: Elaboración Propia.

3.8.4. Diagrama de flujo de las etapas de fertilidad

Para la presente investigación se consideró las siguientes etapas:

Figura 12.

Diagrama del proceso de inducción de esporas de Lessonia nigrescens.



Nota: Elaboración Propia.

3.8.5. Registro de los parámetros abióticos en laboratorio

De igual manera el registro de parámetros abióticos (luz y temperatura) se realizó en forma diaria durante el periodo experimental.

3.9. Técnicas para la presentación y análisis de datos

3.9.1. Metodología para Análisis Estadístico Descriptivo de los datos

El análisis estadístico de los resultados valores de germinación y porcentajes de fertilidad, se realizó mediante el paquete GGPLOT2 del Software libre R, el cual es un entorno informático estadístico que incluye herramientas de análisis de datos y generación de gráficas.

Medidas de Tendencia Central

A través del software R se procedió a calcular la media de los resultados de germinación de esporas y porcentaje de fertilidad de. *Lessonia nigrescens* en cada estación del año, a fin de evaluar el centro de distribución de la muestra estadística.

Medidas de Dispersión

A través del software R se procedió a calcular el valor máximo, valor mínimo, rango y desviación estándar de los resultados de germinación de esporas y porcentaje de fertilidad de *Lessonia nigrescens* en cada estación del año, con lo que se determina la variabilidad de la muestra estadística o grado de separación de los valores.

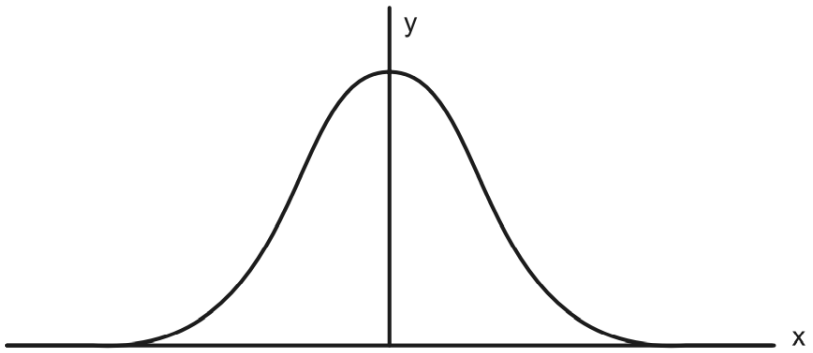
3.9.2. Metodología para Análisis Estadístico de los datos

Prueba de Normalidad

La distribución normal es aquella en la cual los datos forman una campana perfecta o de Gauss.

Figura 13.

Distribución Normal.



Nota: Galindo-Domínguez (2020).

La prueba de Shapiro-Wilk es aplicable para muestras pequeñas (<50 casos), y consiste en establecer la hipótesis a evaluar y determinar el valor de significancia.

Por tal motivo, para la presente investigación se estableció lo siguiente:

CONTRASTE DE HIPOTESIS

- H_0: la muestra proviene de una población normal
- H_1: la muestra NO proviene de una población normal.

SIGNIFICANCIA

- 5 % = 0.05

A través del software R, se realizó la prueba de Shapiro a los valores de germinación de esporas y a los porcentajes de fertilidad en cada una de las estaciones de año.

Teniendo en consideración que existen dos grandes grupos; pruebas paramétricas y pruebas no paramétricas. Se compara los p – valores obtenidos con el valor de significancia (0.05):

- p – valor > 0.05: se acepta la Hipótesis Nula (H0) se aplican las pruebas paramétricas.
- p – valor < 0.05: se rechaza la Hipótesis Nula (H_0) se aplican las pruebas no paramétricas

Comparación de Medias

La prueba ANOVA de un factor, es la prueba paramétrica encargada de medir diferencias de medias en los casos en que exista una variable independiente

de más de 2 categorías independientes, por tal motivo en la presente investigación se determinó lo siguiente:

Tabla 2.

ANOVA de un factor.

Fuente de variación	**Suma de cuadrados**	**grados de libertad**	**Cuadrados medios**	**f calculada**
Entre Grupos	*SCA*	k – 1	$s_1^2 = \frac{SCA}{k-1}$	$f_1 = \frac{s_1^2}{s^2}$
Dentro de Grupos	*SCB*	n – k	$s_2^2 = \frac{SCB}{n-k}$	

Nota: Elaboración Propia

A través del software R, se realizó la prueba de ANOVA a los valores de germinación de esporas y a los porcentajes de fertilidad en cada una de las estaciones de año.

Capítulo IV

Resultados

4.1. Inducción de esporas de *Lessonia nigrescens*

La inducción de esporas de *Lessonia nigrescens* se detalla a continuación:

4.1.1. Estrés hídrico

Se adecuó la caja isotérmica a una temperatura de 10°C; además, se le aplicó durante 3 y 6 horas, estrés osmótico y oscuridad a los soros reproductivos. Concluido el tiempo se procedió a retirar los soros, en distintas bandejas según su rango de diámetro de rizoide para pesar 30 g de soro reproductivo por cada rango trabajado.

Figura 14.

Pesado y retirado de soros concluido el estrés.

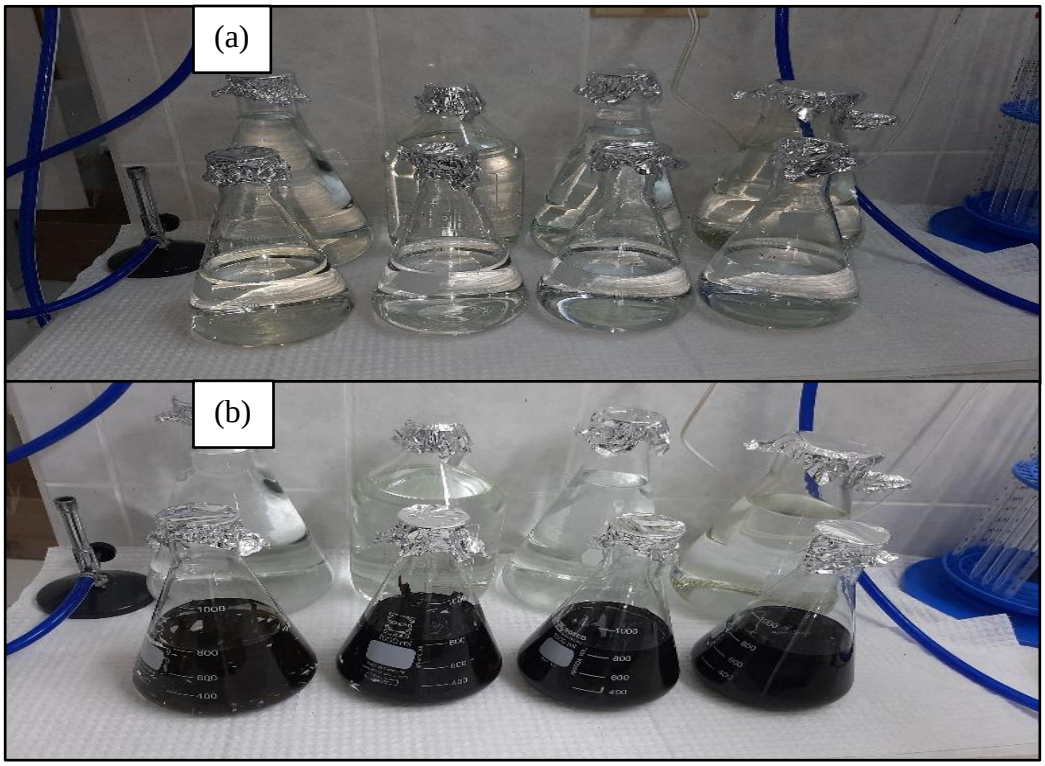
Nota: Elaboración Propia

4.1.2. Rehidratación

Se incorporó los soros reproductivos en 4 matraces rotulados según el rango de diámetro de rizoide, con agua de mar estéril y fertilizada con medio nutritivo Provasoli; con el objetivo de inducir la esporulación del tejido reproductivo mediante la liberación de esporas, manteniendo la temperatura a 17°C, sin aire y oscuridad por el periodo de una hora.

Figura 15.

Matraces para rehidratación.



Nota: (a) Matraces con agua de mar estéril. (b) Matraces rehidratando soros. Elaboración Propia.

4.1.3. Esporulación

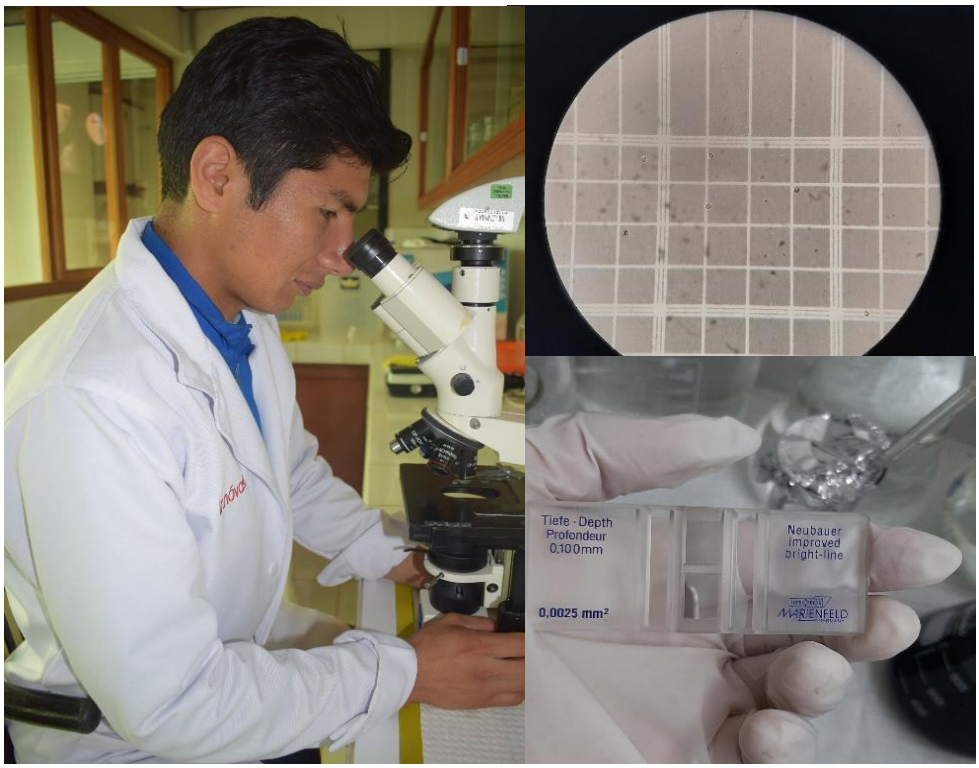
Se estableció una hora para la liberación de esporas o llamada también reproducción asexual inducida artificialmente dentro de los matraces, que consiste en estimular la liberación el tejido reproductivo, producto del estrés hídrico y la rehidratación de soros reproductivos. Se aplicaron dos métodos de aplicación de estrés hídrico para lograr una mejor esporulación aplicando 3 y 6 horas.

4.1.4. Recuento de esporas

Mediante el empleo de una pipeta de vidrio de 5 ml, una cámara de Neubauer y un microscopio compuesto (10x) se realizó un recuento con tres repeticiones por cada rango trabajado, luego de 1 hora de las esporas distribuidas en 1mL de muestra procedente del caldo de esporas de cada matraz.

Figura 16.

Recuento de esporas liberadas en microscopio.



Nota: Elaboración Propia.

4.1.5. Resultados de los tratamientos aplicados

Se aplicó dos tratamientos, los cuales se diferenciaron por el tiempo expuesto a deshidratación de frondas reproductivas; además, el material reproductivo es diferenciado por 4 rangos de talla según el diámetro de rizoide de planta (A: 6-10; B: 11-15; C: 16-20; D:>21) en estado de fertilidad y a su vez cada rango de talla tendrá tres repeticiones.

Tabla 3.

Resultados de reconteo de esporas de Lessonia nigrescens con el tratamiento (T1)

Repeticiones	**Rangos de diámetro de rizoide**			
	6-10cm	11-15cm	16-20cm	21 a +
1	12	28	8	19
2	9	15	15	13
3	15	30	2	15
Promedio	12	24.3	8.3	15.6

Nota: Elaboración Propia.

Se puede observar que se obtuvo el valor más alto con el diámetro de rizoide (11-15 cm) con el recuento de 24 y el valor más bajo con el diámetro de rizoide (16-20 cm) con el recuento de 8.

Tabla 4.

Resultados de reconteo de esporas de L. nigrescens con el tratamiento (T2).

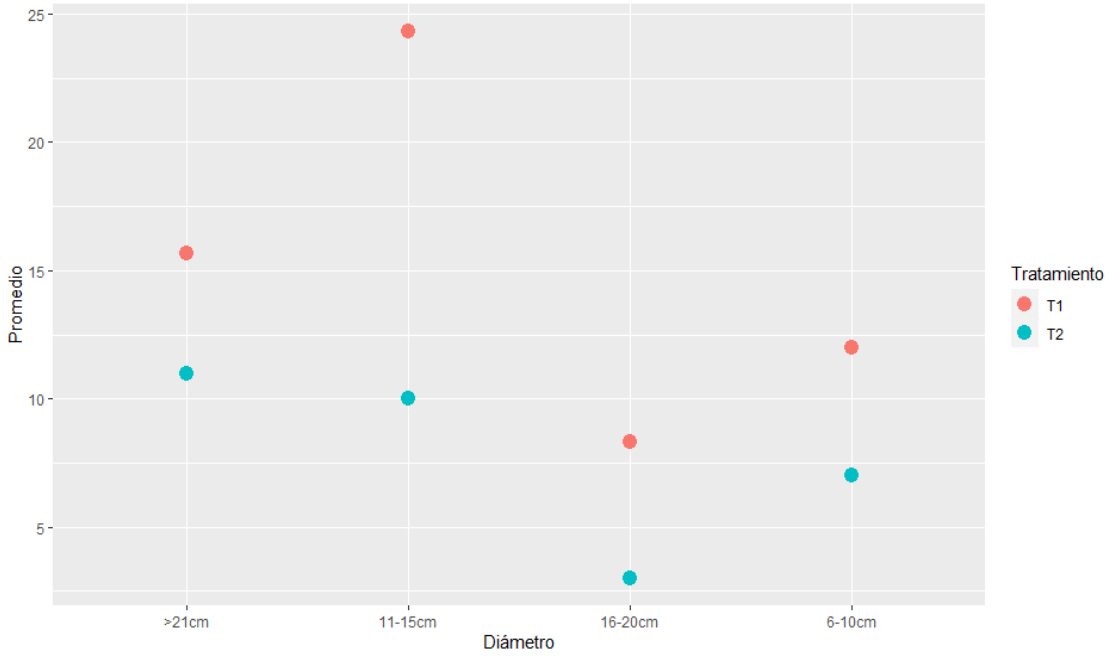
Repeticiones	**Rangos de diámetro de rizoide**			
	6-10cm	11-15cm	16-20cm	21 a +
1	4	14	0	14
2	7	11	7	10
3	10	5	2	9
Promedio	7	10	3	11

Nota: Elaboración Propia.

Se puede observar que se obtuvo el valor más alto con el diámetro de rizoide (11-15 cm) con el recuento de 10 y el valor más bajo con el diámetro de rizoide (16-20 cm) con el recuento de 3.

Figura 17.

Recuento de esporas (T1 y T2).



Nota: Elaboración Propia.

Al comparar los resultados obtenidos de los dos tratamientos aplicados (T1 y T2), se puede observar que el T1 presentó los valores más altos en los diversos diámetros de rizoide, por tal motivo se optó por seleccionar el T1 para continuar las etapas posteriores.

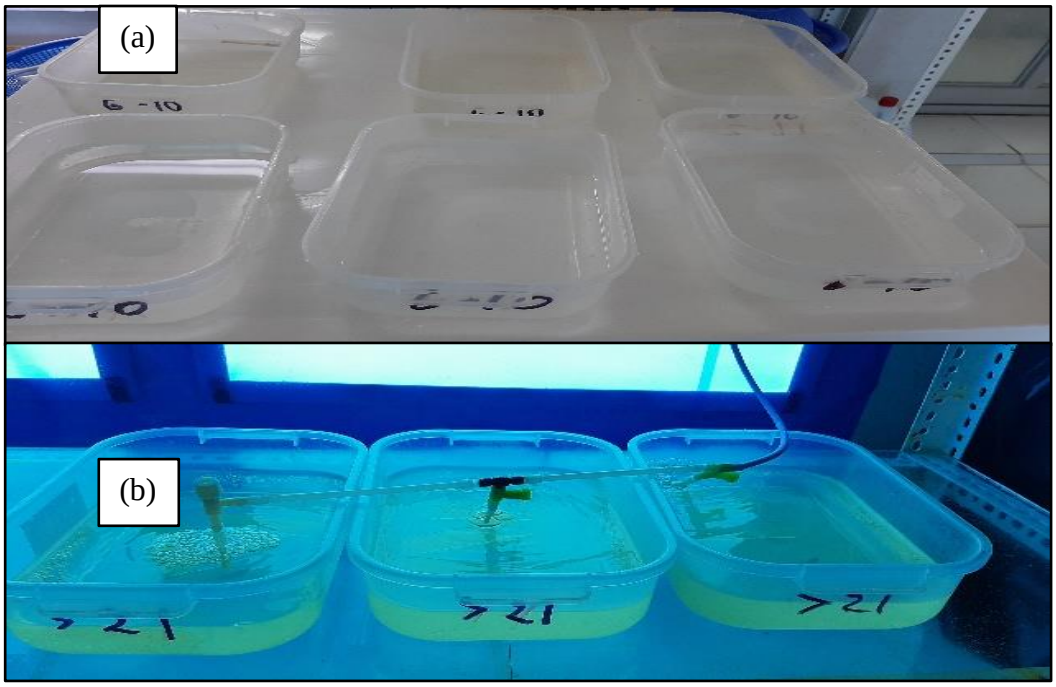
4.2. Germinación de esporas de *Lessonia nigrescens* post esporulación

La germinación de esporas de *Lessonia nigrescens* en la presente investigación se detalla a continuación:

4.2.1. Inoculación

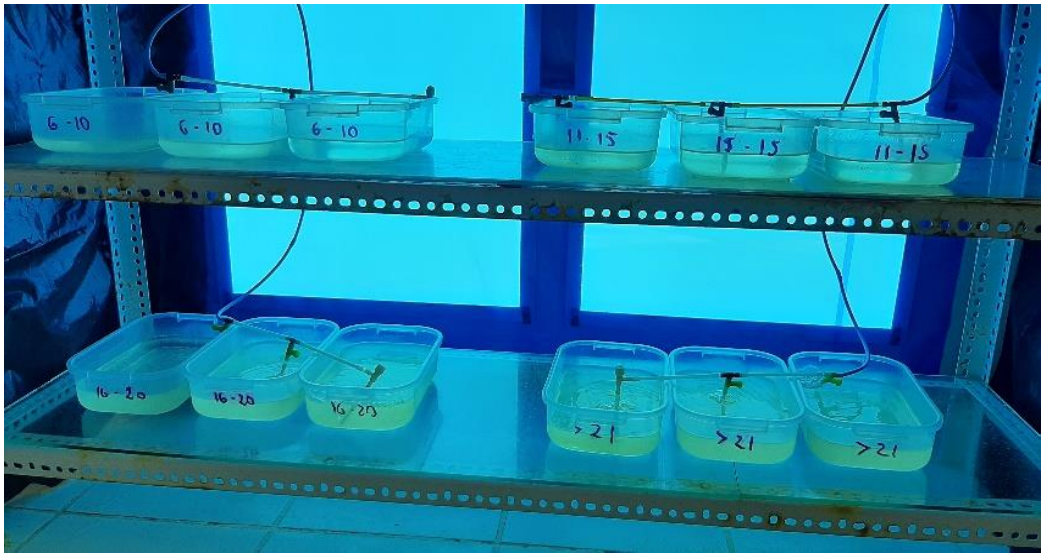
El caldo contenido en los 4 matraces de 1L rotulados por cada rango de diámetro de rizoide, se tamizó (75µm) e inoculó cada matraz en 3 envases de 1.5L de agua de mar estéril debidamente esterilizada, con 3 porta objetos de vidrio como sustratos de fijación para realizar el cultivo, manteniendo la temperatura a 17°C, con aire moderado para favorecer la fijación de esporas, fertilizado con nutriente Provasoli, expuesto a un fotoperíodo 12:12 (luz-oscuridad), 1700 lux a 2300 lux de luminosidad (luz azul) y recambio de agua cada 2 días durante los primeros 8 días, luego cada 5 días de recambio de agua y medio nutritivo.

Figura 18.
Envases de inoculación.



Nota: (a) Envases transparentes sin inocular. (b) Envases inoculados con luz azul y aire moderado. Elaboración Propia.

Figura 19.
Adaptación del sistema de cultivo.



Nota: Elaboración Propia.

4.2.2. Fijación

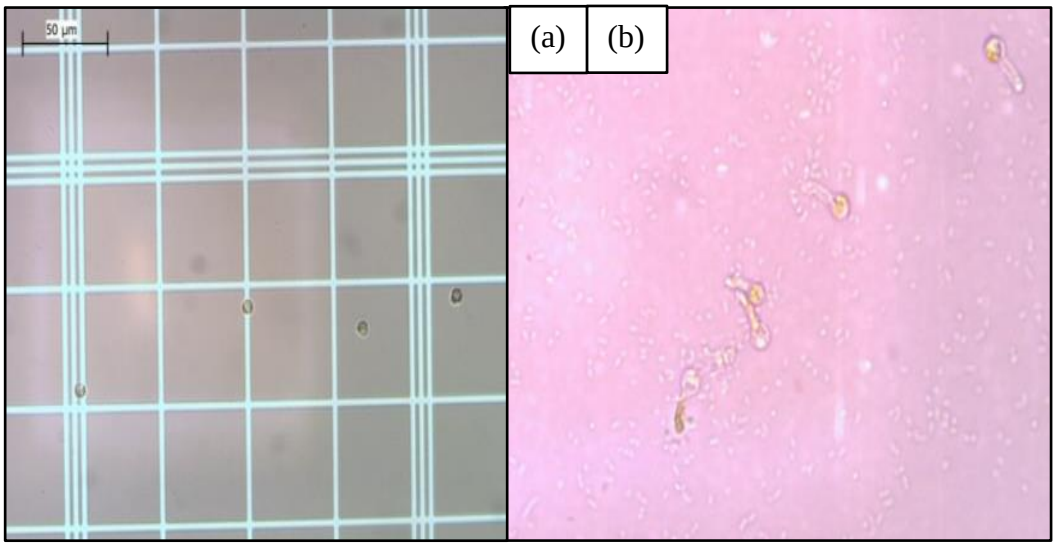
Una vez inoculado el caldo de esporas, se tomó una muestra una hora después para verificar la fijación de esporas, se pudo observar algunas esporas ya fijadas en las láminas de vidrio, como otras suspendidas con ayuda de la cámara de neubauer a través de un microscopio.

La fijación inició una hora después de introducir el caldo de esporas hasta un periodo de 24 horas post-liberación, y requirieron adherirse a un sustrato para continuar su desarrollo a espora germinada.

Para su fijación comenzaron desarrollar un pedúnculo, es como un brazo que les sirvió para adherirse al sustrato.

Figura 20.

Fijación.



Nota: (a) Muestra de esporas suspendidas. (b) Esporas fijas con pedúnculo desarrollado. Elaboración Propia.

4.2.3. Germinación

Luego de la fijación de esporas, comenzó el proceso de germinación aproximadamente hasta el 5to día de cultivo en que la espora desarrolla el pedúnculo para fijarse al sustrato dispuesto en los envases; por ello se tomó una muestra para verificar la germinación de esporas adheridas al sustrato de fijación, se observó en el microscopio, con recambio de agua cada 2 días, con aire moderado, fotoperiodo 12:12 (luz: oscuridad), 1700 lux a 2300 lux de luminosidad (luz azul), 17°C y medio nutritivo Provasoli.

Figura 21.

Esporas germinadas al quinto día de cultivo.

Nota: Elaboración Propia.

4.2.4. Resultados por estacionalidad

Después de seleccionar la técnica más efectiva para inducir a la liberación de esporas. Se aplicó la técnica durante las cuatro estaciones del año (O: Otoño, I: invierno, P: primavera y V: verano) para comparar la viabilidad de germinación en función de la estacionalidad por cada rango de diámetro de rizoide con sus tres repeticiones correspondientes.

A partir del material biológico se inició el cultivo en medio controlado hasta la etapa de gametofito; se apreció un elevado porcentaje de fijación en el sustrato luego de 15 horas; fase donde se evidencian que las embriosporas se asientan luego de germinar, proceso reconocido por la formación de una protuberancia o tubo de germinación.

Análisis estadístico de los resultados

Los resultados de las mediciones de Tendencia Central y de Dispersión de las esporas germinadas en las cuatro estaciones se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 5.

Resultados de esporas germinadas en invierno.

DIÁMETRO	R1	R2	R3	PROMEDIO	MIN	MAX	RANGO	DESV.EST
6-10cm	263	659	2305	1075.66667	263	2305	2042	1082.88934
11-15cm	1778	856	1975	1536.33333	856	1975	1119	597.362815
16-20cm	1778	1120	1581	1493	1120	1778	658	337.711415
>21cm	1186	790	1844	1273.33333	790	1844	1054	532.399599

Nota: Elaboración Propia.

Se puede observar que el rango, el cual está definido por la sustracción del valor máximo y el valor mínimo es alto superando la centena en todos los resultados, indicativo de una mayor dispersión de las cantidades de esporas que lograron fijarse.

De igual manera los valores de desviación estándar que cuantifica la dispersión alrededor a la media aritmética, son altos, corroborando que las dispersiones son mayores en invierno.

Tabla 6.

Resultados de esporas germinadas en otoño.

DIÁMETRO	R1	R2	R3	PROMEDIO	MIN	MAX	RANGO	DESV.EST
6-10cm	922	659	988	856.333333	659	988	329	174.052674
11-15cm	2174	725	1054	1317.66667	725	2174	1449	759.631709
16-20cm	988	659	988	878.333333	659	988	329	189.948239
>21cm	856	527	922	768.333333	527	922	395	211.590012

Nota: Elaboración Propia.

Se puede observar que el rango, el cual está definido por la sustracción del valor máximo y el valor mínimo es alto superando la centena en todos los resultados, indicativo de una mayor dispersión de las cantidades de esporas que lograron fijarse.

De igual manera los valores de desviación estándar que cuantifica la dispersión alrededor a la media aritmética, son altos, corroborando que las dispersiones son mayores en otoño.

Tabla 7.

Resultados de esporas germinadas en primavera.

DIÁMETRO	R1	R2	R3	PROMEDIO	MIN	MAX	RANGO	DESV.EST
6-10cm	2042	856	527	1141.66667	527	2042	1515	796.875356
11-15cm	2437	2635	1778	2283.33333	1778	2635	857	448.689573
16-20cm	2174	2174	1976	2108	1976	2174	198	114.315353
>21cm	3491	4018	988	2832.33333	988	4018	3030	1618.82869

Nota: Elaboración Propia.

Se puede observar que el rango, el cual está definido por la sustracción del valor máximo y el valor mínimo es alto superando la centena en todos los resultados, indicativo de una mayor dispersión de las cantidades de esporas que lograron fijarse.

De igual manera los valores de desviación estándar que cuantifica la dispersión alrededor a la media aritmética, son altos, corroborando que las dispersiones son mayores en primavera.

Tabla 8.

Resultados de esporas germinadas en verano.

DIÁMETRO	R1	R2	R3	PROMEDIO	MIN	MAX	RANGO	DESV.EST
6-10cm	1778	263	856	965.666667	263	1778	1515	763.430634
11-15cm	2239	4479	329	2349	329	4479	4150	2077.1856
16-20cm	3557	5269	461	3095.66667	461	5269	4808	2436.97299
>21cm	4940	6191	1120	4083.66667	1120	6191	5071	2641.73056

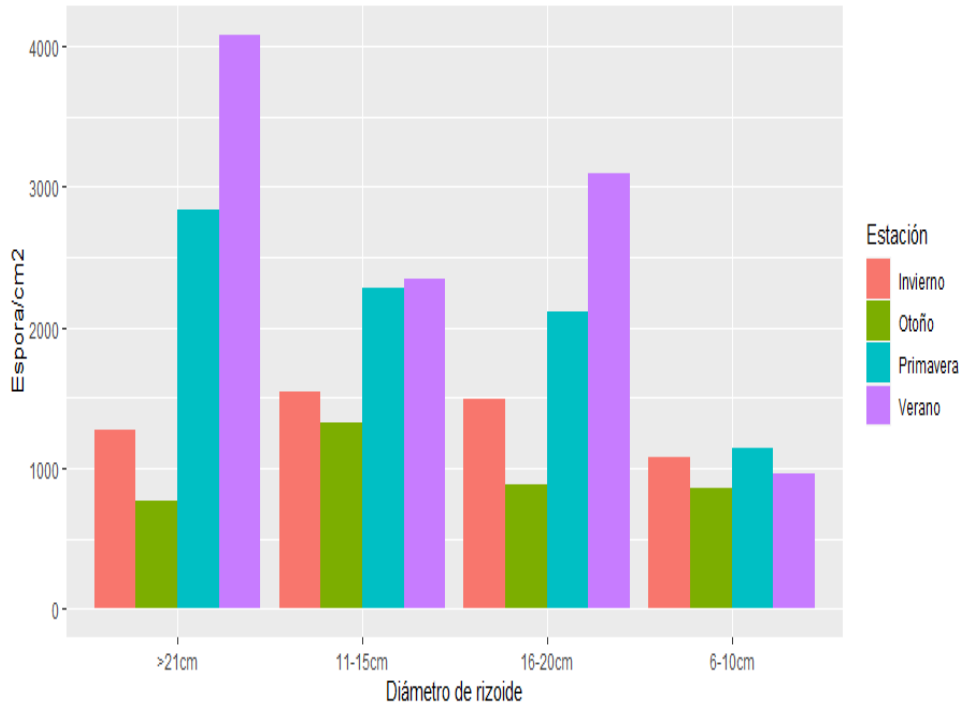
Nota: Elaboración Propia.

Se puede observar que el rango, el cual está definido por la sustracción del valor máximo y el valor mínimo es alto superando la unidad de millar en todos los resultados, indicativo de una mayor dispersión de las cantidades de esporas que lograron fijarse.

De igual manera los valores de desviación estándar que cuantifica la dispersión alrededor a la media aritmética, son altos, corroborando que las dispersiones son mayores en verano.

Figura 22.

Recuento de Esporas germinadas promedio de Lessonia nigrescens en 1cm^2 (5to día de cultivo).



Nota: Elaboración Propia.

De acuerdo a los resultados, la mayor cantidad de esporas que logró fijarse con 4083.666667 esporas/cm^2 estuvieron dentro del rango de >21 cm; posteriormente el rango 16 – 20 cm de rizoide con 3095.666667 esporas/cm^2 fijadas, seguido del rango 11 – 15cm con 2349 esporas/cm^2 y finalmente, en el rango menor 6 – 10 cm de diámetro de rizoide se fijaron 1141.666667 esporas/cm^2 en el sustrato suministrado.

Cabe mencionar que en verano se obtuvieron las mayores cantidades de esporas que lograron fijarse, específicamente en los rangos >21 cm, 16 – 20 cm y 11 – 15cm y en primavera, se obtuvo la mayor cantidad esporas que lograron fijarse en el rango 6 – 10 cm; por otro lado, en otoño se presentaron las menores cantidades de esporas que lograron fijarse en todos los rangos establecidos.

Prueba de la Normalidad

Se realizó el test de Shapiro – Wilk para determinar qué tipo de distribución poseen los valores de germinación de esporas de *Lessonia nigrescens* en las estaciones del año.

Tabla 9.

Prueba de Normalidad de los valores de germinación de Lessonia nigrescens en invierno.

Prueba Estadística "Shapiro – Wilk"		
Hipótesis	**H_0:** la muestra proviene de una población normal **H_1:** la muestra NO proviene de una población normal.	
Significancia	5% = 0.05	
Diámetro de rizoide	**w**	**p – valor**
6 – 10 cm	0.88896	0.3512
11 – 15 cm	0.87725	0.3164
16 – 20 cm	0.94907	0.5653
>21 cm	0.97982	0.7278

Nota: Elaboración Propia.

Al comparar los valores p – valor de los valores de germinación de esporas de *Lessonia nigrescens* con el valor de significancia (0,05), se puede observar que los valores p – valor son superiores en todos los diámetros, por ende, se acepta la hipótesis nula (H_0), es decir, los valores de germinación provienen de una población normal en la estación de invierno.

Tabla 10.

Prueba de Normalidad de los valores de germinación de *Lessonia nigrescens* en otoño.

	Prueba Estadística "Shapiro – Wilk"	
Hipótesis	**H_0:** la muestra proviene de una población normal **H_1:** la muestra NO proviene de una población normal.	
Significancia	5% = 0.05	
Diámetro de rizoide	**w**	**p – valor**
6 – 10 cm	0.89324	0.3643
11 – 15 cm	0.90964	0.4169
16 – 20 cm	0.75	2.2e-16
>21 cm	0.87125	0.2991

Nota: Elaboración Propia.

Al comparar los valores p – valor de los valores de germinación de esporas de *Lessonia nigrescens* con el valor de significancia (0.05), se puede observar que los valores p – valor son superiores en los diámetros (**6 – 10 cm**, **11 – 15 cm y >21**

cm) e inferiores en el diámetro **16 – 20 cm**, por ende, se acepta la hipótesis nula (H_0), es decir, los valores de germinación provienen de una población normal en los diámetros ya mencionados y se rechaza la hipótesis nula (H_0) en el diámetro **16 – 20 cm,** en la estación de otoño.

Tabla 11.

Prueba de Normalidad de los valores de germinación de Lessonia nigrescens en primavera.

	Prueba Estadística "Shapiro – Wilk"	
Hipótesis	**H_0:** la muestra proviene de una población normal **H_1:** la muestra NO proviene de una población normal.	
Significancia	5 % = 0.05	
Diámetro de rizoide	**w**	**p – valor**
6 – 10 cm	0.90362	0.3971
11 – 15 cm	0.91203	0.4249
16 – 20 cm	0.75	2.2e-16
>21 cm	0.87584	0.3123

Nota: Elaboración Propia.

Al comparar los valores p – valor de los valores de germinación de esporas de *Lessonia nigrescens* con el valor de significancia (0.05), se puede observar que los valores p – valor son superiores en los diámetros (**6 – 10 cm**, **11 – 15 cm y >21 cm**) e inferiores en el diámetro **16 – 20 cm**, por ende, se acepta la hipótesis nula

(H_0), es decir, los valores de germinación provienen de una población normal en los diámetros ya mencionados y se rechaza la hipótesis nula (H_0) en el diámetro **16 – 20 cm** en la estación de primavera.

Tabla 12.

Prueba de Normalidad de los valores de germinación de Lessonia nigrescens en verano.

	Prueba Estadística "Shapiro – Wilk"	
Hipótesis	**H_0:** la muestra proviene de una población normal **H_1:** la muestra NO proviene de una población normal.	
Significancia	5% = 0.05	
Diámetro de rizoide	**w**	**p – valor**
6 – 10 cm	0.98452	0.7618
11 – 15 cm	0.9979	0.9124
16 – 20 cm	0.97312	0.6855
>21 cm	0.92119	0.4565

Nota: Elaboración Propia.

Al comparar los valores p – valor de los valores de germinación de esporas de *Lessonia nigrescens* con el valor de significancia (0.05), se puede observar que los valores p – valor son superiores en todos los diámetros, por ende, se acepta la hipótesis nula (H_0), es decir, los valores de germinación provienen de una población normal en la estación de verano.

Comparación de medias

Se realizó la prueba ANOVA de un factor para determinar la variación de medias que poseen los valores de germinación de esporas de *Lessonia nigrescens* en las estaciones del año.

Tabla 13.

ANOVA de un factor de la germinación de *Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 6 – 10 cm.*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrados medios	f calculada	p – valor
Estación	*141681*	3	47227	0.078	0.97
Residuales	*4841561*	8	605195		

Nota: Elaboración Propia

Considerando que la hipótesis nula de igualdad de medias ($p > .005$) y alterna de diferencia de medias ($p < .005$), se puede observar que el p – valor es 0,97 por ende, se acepta la hipótesis nula y se establece que hay una igualdad de medias en el diámetro de 6 – 10 cm.

Tabla 14.

ANOVA de un factor de la germinación de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 11 – 15 cm.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrados medios	f calculada	p – valor
Estación	*2450043*	3	816681	0.599	0.633
Residuales	*10899810*	8	1362476		

Nota: Elaboración Propia

Considerando que la hipótesis nula de igualdad de medias (p > .005) y alterna de diferencia de medias (p < .005), se puede observar que el p – valor es 0.633, por ende, se acepta la hipótesis nula y se establece que hay una igualdad de medias en el diámetro de 11 – 15 cm.

Tabla 15.

ANOVA de un factor de la germinación de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 16 – 20 cm.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrados medios	f calculada	p – valor
Estación	*8046535*	3	2682178	1.758	0.233
Residuales	*12204069*	8	1525509		

Nota: Elaboración Propia

Considerando que la hipótesis nula de igualdad de medias (p > .005) y alterna de diferencia de medias (p < .005), se puede observar que el p – valor es 0.233, por ende, se acepta la hipótesis nula y se establece que hay una igualdad de medias en el diámetro de 16 – 20 cm.

Tabla 16.

ANOVA de un factor de la germinación de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de >21cm

Fuente de variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrados medios	f calculada	p – valor
Estación	*20550634*	3	6850211	2.76	0.112
Residuales	*19855133*	8	2481892		

Nota: Elaboración Propia

Considerando que la hipótesis nula de igualdad de medias (p > .005) y alterna de diferencia de medias (p < .005), se puede observar que el p – valor es 0.112, por ende, se acepta la hipótesis nula y se establece que hay una igualdad de medias en el diámetro de >21 cm.

4.3. Fertilidad de *Lessonia nigrescens*

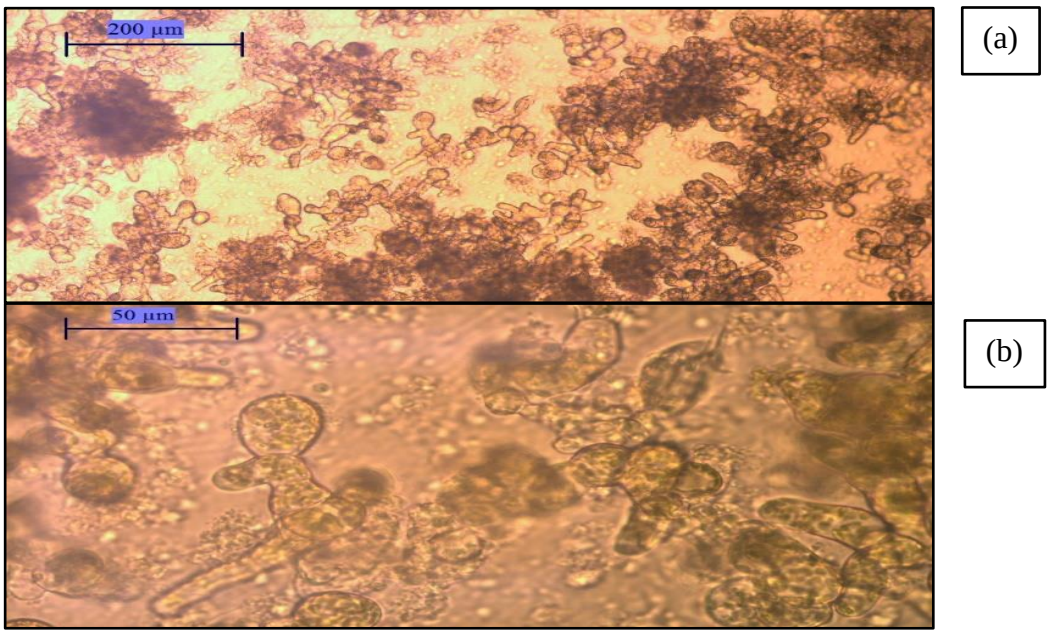
La fertilidad de *Lessonia nigrescens* en la presente investigación se detalla a continuación:

4.3.1. Desarrollo a gametofitos

A partir del 5to día de cultivo se observó el desarrollo de espora germinada a gametofitos, y se empezó a reconocer a partir del 8vo día hasta el 10mo día de cultivo. Entre el 8vo y 10mo día se tomó una muestra para monitorear su desarrollo, y se pudo observar en el microscopio que gran mayoría de esporas germinadas desarrollaron a gametofitos, se continuó con recambios de agua cada 2 días, con aire moderado, fotoperiodo 12:12 (luz: oscuridad), 1700 lux a 2300 lux de luminosidad (luz azul), 17°C y medio nutritivo Provasoli.

Figura 23.

Gametofitos de Lessonia nigrescens al noveno día de cultivo.



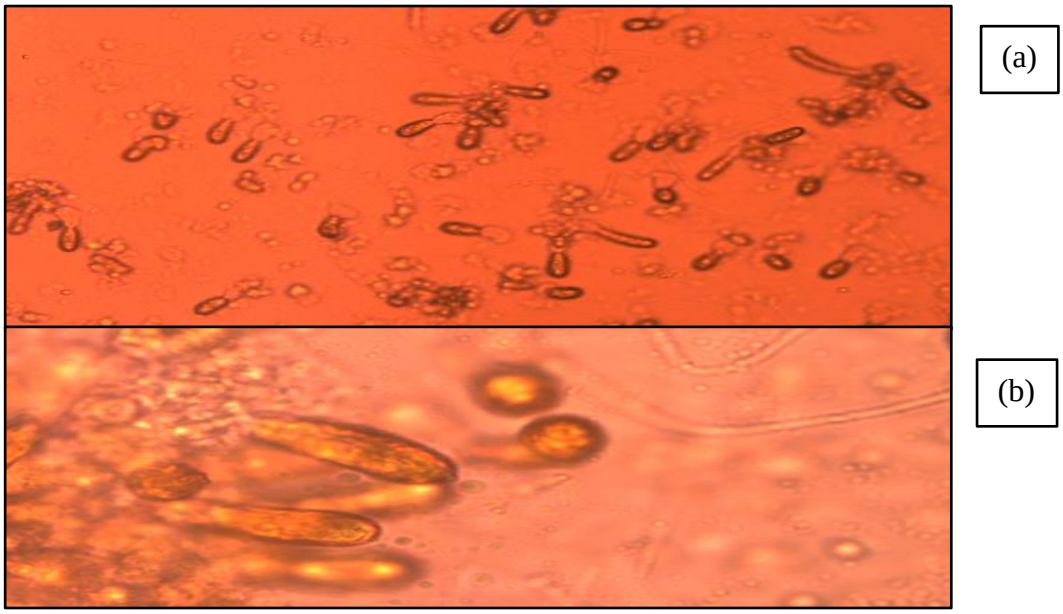
Nota: (a) Objetivo de microscopio (10x). (b) Objetivo de microscopio (40x). Elaboración Propia.

4.3.2. Diferenciación de gametofitos

Durante los primeros días de la segunda semana de cultivo no se efectuaron recambios de agua de mar estéril del día 10 hasta el día 12-15 (dependiendo del desarrollo de gametofito) periodo en el que se fecundaron los gametofitos, se suministró aire moderado y se fertilizó con medio nutritivo Provasoli, manteniendo la temperatura a 17°C y fotoperiodo 12:12 (luz: oscuridad), 1700 lux a 2300 lux de luminosidad (luz azul); se observó con un microscopio (10x) la maduración sexual distinguiéndose los primeros gametofitos femeninos y masculinos.

Figura 24.

Diferenciación de gametofitos.



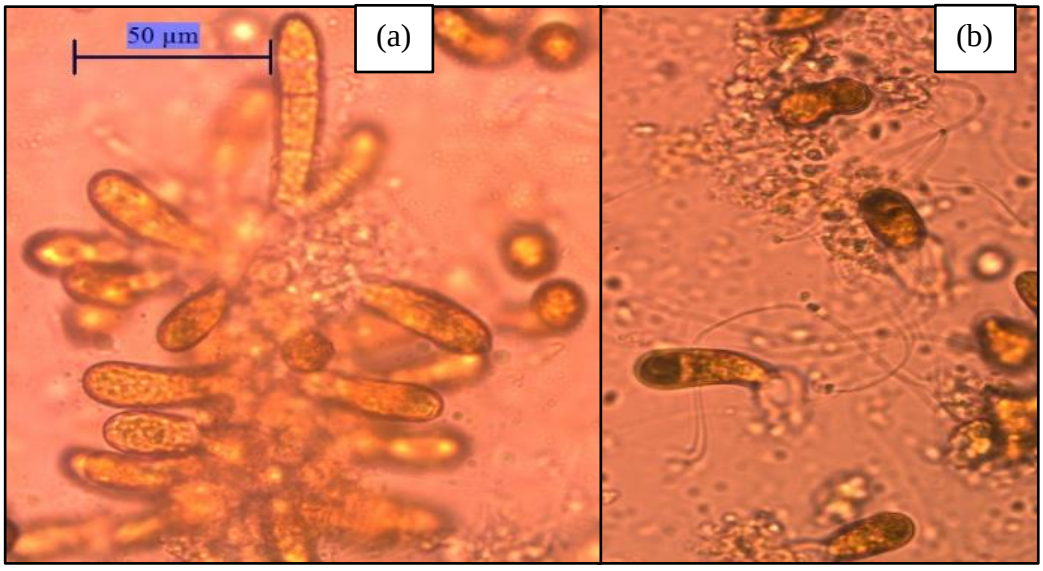
Nota: (a) Gametofitos masculinos (filamentos alargados) de *Lessonia nigresens*. (b) Se observan gametofitos femeninos (filamentos robustos con cigoto) de *L. nigrescens*. Elaboración Propia.

4.3.3. Fertilidad de gametofitos

Se realizó monitoreos diarios a partir del día 12 al 15 observando en el microscopio muestras del cultivo para observar oogonios fecundados como resultado de la fusión de gametos masculinos y gametos femeninos; la fertilidad de gametofitos femeninos se determinó a 20 días de cultivo aproximadamente y expresado como el porcentaje de gametofitos femeninos con oogonio o llamados esporofifos embrionarios comparado con el número total de gametofitos femeninos observados.

Figura 25.

Fertilidad de gametofitos.



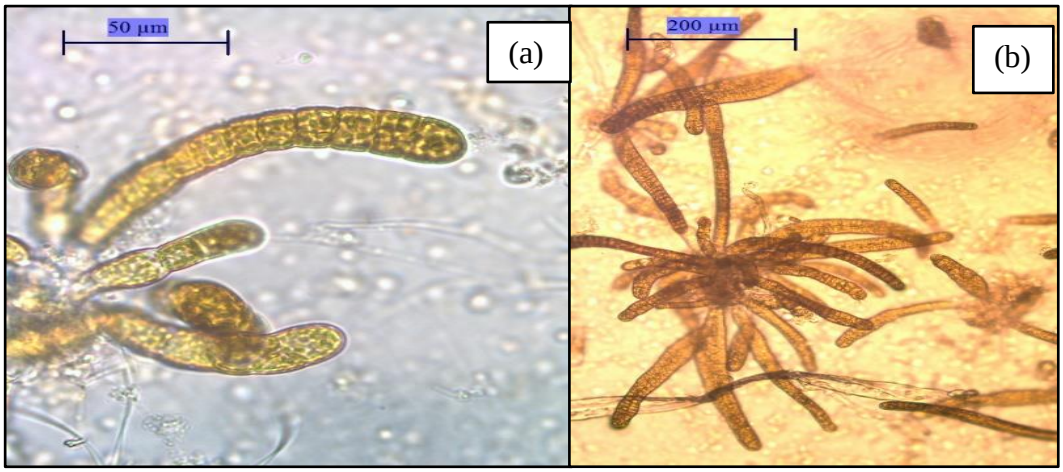
Nota: (a) Gametofitos femeninos, cigotos fecundados y gametofitos embrionarios de *Lessonia nigresens*. (b) Se observan esporofitos embrionarios de *Lessonia nigrescens*. Elaboración Propia.

4.3.4. Esporofitos iniciales.

Del día 15 al 20 se comenzaron a desarrollar hasta llegar a esporofitos iniciales tempranos cuyo crecimiento aumentó en longitud y ancho hasta alcanzar la fase final, a partir del día 15 se continuó con los recambios de agua cada 3 días, con aire moderado, fotoperiodo 12:12 (luz: oscuridad), 1700 lux a 2300 lux de luminosidad (luz azul), 17°C y medio nutritivo Provasoli.

Figura 26.

Esporofitos iniciales Lessonia nigrescens, muestra tomada el día 20 de cultivo.



Nota: (a) objetivo de microscopio (10x). (b) Objetivo de microscopio (40x). Elaboración Propia.

4.3.5. Resultados del porcentaje de fertilidad de Lessonia nigrescens

Luego de 8 días se observó el inicio del estado de gametofito, período en que el contenido citoplasmático de la espora es traspasado a la célula primaria del gametofito, indicador del inicio del proceso ontogénico; a medida que transcurrieron los días se manifestaron en estructuras femeninas como gametofitos multicelulares filamentosos relativamente robustos y como gametofitos unicelulares.

Tras 10 días de cultivo se evidenciaron oogonios por gametofito al momento de alcanzar la fertilidad; mientras en el caso de los gametofitos masculinos, presentaron una estructura filamentosa alargada, con pocas células previas a la formación de anteridios.

Una vez fecundado el oogonio se confirma la fertilidad a partir de los 10 días de cultivo aproximadamente; siendo posible evidenciar la mayor proporción de células huevo a partir del día 17 al 20. El cigoto formado es liberado del gametofito femenino, para iniciar el desarrollo del esporofito que por sucesivas divisiones transversales seguidas de divisiones longitudinales originan un talo monostromático del esporofito inicial.

$$F\ (\%) = \frac{100\ (n°\ total\ de\ gametofitos\ con\ oogonio\ o\ esporofito\ inicial}{n°\ total\ de\ gametofitos\ femeninos}$$

Análisis estadístico de los resultados

Los resultados de las mediciones de Tendencia Central y de Dispersión de las esporas germinadas en las cuatro estaciones se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 17.

Resultados de fertilidad de gametofitos en invierno.

DIÁMETRO	R1	R2	R3	PROMEDIO	MIN	MAX	RANGO	DESV.EST
6-10cm	58	44	15	39	15	58	43	21.9317122
11-15cm	66	79	19	54.6666667	19	79	60	31.5647483
16-20cm	72	81	28	60.3333333	28	81	53	28.360771
>21cm	75	78	24	59	24	78	54	30.3479818

Nota: Elaboración Propia.

Se puede observar que el rango, el cual está definido por la sustracción del valor máximo y el valor mínimo es alto superando la centena en todos los resultados, indicativo de una mayor dispersión de las cantidades de esporas que lograron fijarse.

De igual manera los valores de desviación estándar que cuantifica la dispersión alrededor a la media aritmética, son altos, corroborando que las dispersiones son mayores en invierno.

Tabla 18.

Resultados de fertilidad de gametofitos en otoño.

DIÁMETRO	R1	R2	R3	PROMEDIO	MIN	MAX	RANGO	DESV.EST
6-10cm	10	64	83	52.3333333	10	83	73	37.8725934
11-15cm	32	61.8182	96	63.2727333	32	96	64	32.0247834
16-20cm	92	62	75	76.3333333	62	92	30	15.0443788
>21cm	75	97	83	85	75	97	22	11.1355287

Nota: Elaboración Propia.

Se puede observar que el rango, el cual está definido por la sustracción del valor máximo y el valor mínimo es alto superando la centena en todos los resultados, indicativo de una mayor dispersión de las cantidades de esporas que lograron fijarse.

De igual manera los valores de desviación estándar que cuantifica la dispersión alrededor a la media aritmética, son altos, corroborando que las dispersiones son mayores en otoño.

Tabla 19.

Resultados de fertilidad de gametofitos en primavera.

DIÁMETRO	R1	R2	R3	PROMEDIO	MIN	MAX	RANGO	DESV.EST
6-10cm	14	62	33	36.3333333	14	62	48	24.1729877
11-15cm	9	29	39	25.6666667	9	39	30	15.2752523
16-20cm	20	32	33	28.3333333	20	33	13	7.23417814
>21cm	8	24	68	33.3333333	8	68	60	31.0698139

Nota: Elaboración Propia.

Se puede observar que el rango, el cual está definido por la sustracción del valor máximo y el valor mínimo es alto superando la centena en todos los resultados, indicativo de una mayor dispersión de las cantidades de esporas que lograron fijarse.

De igual manera los valores de desviación estándar que cuantifica la dispersión alrededor a la media aritmética, son altos, corroborando que las dispersiones son mayores en primavera.

Tabla 20.

Resultados de fertilidad de gametofitos en verano.

DIÁMETRO	**R1**	**R2**	**R3**	**PROMEDIO**	**MIN**	**MAX**	**RANGO**	**DESV.EST**
6-10cm	22	30	11	21	11	30	19	9.53939201
11-15cm	21	49	20	30	20	49	29	16.4620776
16-20cm	16	9	60	28.3333333	9	60	51	27.6465791
>21cm	25	48	72	48.3333333	25	72	47	23.501773

Nota: Elaboración Propia.

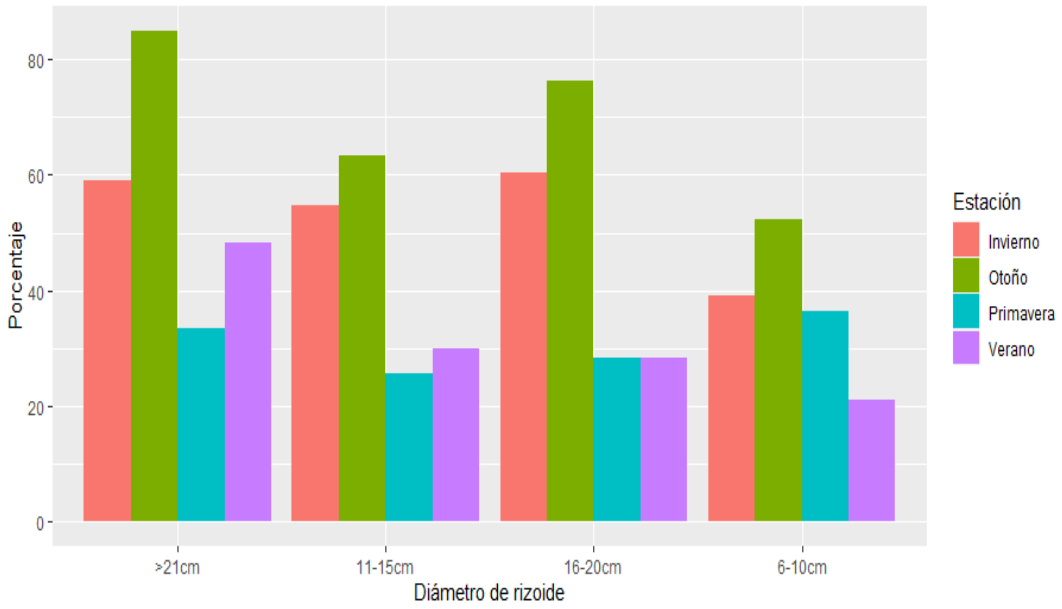
Se puede observar que el rango, el cual está definido por la sustracción del valor máximo y el valor mínimo es alto superando la unidad de millar en todos los

resultados, indicativo de una mayor dispersión de las cantidades de esporas que lograron fijarse.

De igual manera los valores de desviación estándar que cuantifica la dispersión alrededor a la media aritmética, son altos, corroborando que las dispersiones son mayores en verano.

Figura 27.

Porcentaje de Fertilidad de Lessonia nigrescens (9no día de cultivo).



Nota: Elaboración Propia.

De acuerdo a los resultados, se observa 85% de fertilidad para esporas procedentes de ejemplares con diámetro de rizoide de >21 cm; posteriormente 76,33333333% de fertilidad para esporas procedentes de ejemplares con diámetro de rizoide de 16 – 20 cm, seguido del diámetro de rizoide de 11 – 15cm con

63,27273333% de fertilidad para esporas y finalmente, en el diámetro de rizoide de 6-10 cm se obtuvo 52,33333333 % de fertilidad para esporas.

Cabe mencionar que en otoño se obtuvieron las mayores valores de porcentajes de fertilidad para esporas, en todos los diámetros de rizoide (>21 cm, 16 – 20 cm, 11 – 15cm y 6 – 10 cm); por otro lado, en primavera se presentaron los menores valores de porcentajes de fertilidad para esporas, específicamente en los diámetros de rizoide de >21 cm, 16 – 20 cm y 11 – 15cm y en verano, se obtuvo el menor porcentaje de fertilidad para esporas en el diámetro de rizoide de 6 – 10 cm.

Prueba de la Normalidad

Se realizó el test de Shapiro – Wilk para determinar qué tipo de distribución poseen los porcentajes de fertilidad de *Lessonia nigrescens* en las estaciones del año.

Tabla 21.

Prueba de Normalidad de los porcentaje de fertilidad de Lessonia nigrescens en invierno.

	Prueba Estadística "Shapiro – Wilk"
Hipótesis	**H_0:** la muestra proviene de una población normal **H_1:** la muestra NO proviene de una población normal.
Significancia	5% = 0.05

Diámetro de rizoide	w	p – valor
6 – 10 cm	0.96102	0.6204
11 – 15 cm	0.90331	0.3961
16 – 20 cm	0.87308	0.3043
>21 cm	0.79153	0.09444

Nota: Elaboración Propia.

Al comparar los valores p – valor de los porcentajes de fertilidad de *Lessonia nigrescens* con el valor de significancia (0.05), se puede observar que los valores p – valor son superiores en todos los diámetros, por ende, se acepta la hipótesis nula (H_0), es decir, los porcentajes de fertilidad provienen de una población normal en la estación de invierno.

Tabla 22.

Prueba de Normalidad de los porcentajes de fertilidad de Lessonia nigrescens en otoño.

	Prueba Estadística "Shapiro – Wilk"	
Hipótesis	**H_0:** la muestra proviene de una población normal **H_1:** la muestra NO proviene de una población normal.	
Significancia	5% = 0.05	
Diámetro de rizoide	**w**	**p – valor**
6 – 10 cm	0.92883	0.4842
11 – 15 cm	0.99845	0.49249

16 – 20 cm	0.99411	0.8533
>21 cm	0.97581	0.7017

Nota: Elaboración Propia.

Al comparar los valores p – valor de los porcentajes de fertilidad de *Lessonia nigrescens* con el valor de significancia (0.05), se puede observar que los valores p – valor son superiores en todos los diámetros, por ende, se acepta la hipótesis nula (H_0), es decir, los porcentajes de fertilidad provienen de una población normal en la estación de otoño.

Tabla 23.

Prueba de Normalidad de los porcentajes de fertilidad de Lessonia nigrescens en primavera.

	Prueba Estadística "Shapiro – Wilk"	
Hipótesis	**H_0:** la muestra proviene de una población normal **H_1:** la muestra NO proviene de una población normal.	
Significancia	5% = 0.05	
Diámetro de rizoide	**w**	**p – valor**
6 – 10 cm	0.98574	0.7714
11 – 15 cm	0.96429	0.6369
16 – 20 cm	0.80732	0.1321
>21 cm	0.93232	0.4974

Nota: Elaboración Propia.

Al comparar los valores p – valor de los porcentajes de fertilidad de *Lessonia nigrescens* con el valor de significancia (0,05), se puede observar que los valores p – valor son superiores en todos los diámetros, por ende, se acepta la hipótesis nula (H_0), es decir, los porcentajes de fertilidad provienen de una población normal en la estación de primavera.

Tabla 24.

Prueba de Normalidad de los porcentajes de fertilidad de Lessonia nigrescens en verano.

	Prueba Estadística "Shapiro – Wilk"	
Hipótesis	**H_0:** la muestra proviene de una población normal **H_1:** la muestra NO proviene de una población normal.	
Significancia	5 % = 0.05	
Diámetro de rizoide	**w**	**p – valor**
6 – 10 cm	0.99176	0.8264
11 – 15 cm	0.77583	0.05802
16 – 20 cm	0.85074	0.2424
>21 cm	0.99985	0.9765

Nota: Elaboración Propia.

Al comparar los valores p – valor de los porcentajes de fertilidad de *Lessonia nigrescens* con el valor de significancia (0,05), se puede observar que los

valores p – valor son superiores en todos los diámetros, por ende, se acepta la hipótesis nula (H_0), es decir, los porcentajes de fertilidad provienen de una población normal en la estación de verano.

Comparación de medias

Se realizó la prueba ANOVA de un factor para determinar la variación de medias que poseen los porcentajes de fertilidad de *Lessonia nigrescens* en las estaciones del año.

Tabla 25.

ANOVA de un factor del porcentaje de fertilidad de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 6 – 10 cm.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrados medios	f calculada	p – valor
Estación	*1486*	3	495.4	0.765	0.545
Residuales	*5181*	8	647.7		

Nota: Elaboración Propia

Considerando que la hipótesis nula de igualdad de medias (p > 0,005) y alterna de diferencia de medias (p < .005), se puede observar que el p – valor es 0,545 por ende, se acepta la hipótesis nula y se establece que hay una igualdad de medias en el diámetro de 6 – 10 cm.

Tabla 26.

ANOVA de un factor del porcentaje de fertilidad de *Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 11 – 15 cm.*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrados medios	f calculada	p – valor
Estación	*3048*	3	1015.9	1.609	0.262
Residuales	*5053*	8	631.6		

Nota: Elaboración Propia.

Considerando que la hipótesis nula de igualdad de medias (p > .005) y alterna de diferencia de medias (p < .005), se puede observar que el p – valor es 0.262, por ende, se acepta la hipótesis nula y se establece que hay una igualdad de medias en el diámetro de 11 – 15 cm.

Tabla 27.

ANOVA de un factor del porcentaje de fertilidad de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de 16 – 20 cm.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrados medios	f calculada	p – valor
Estación	*5184*	3	1728.0	3.742	0.0602
Residuales	*3695*	8	461.8		

Nota: Elaboración Propia.

Considerando que la hipótesis nula de igualdad de medias (p > .005) y alterna de diferencia de medias (p < .005), se puede observar que el p – valor es

0,0602 por ende, se acepta la hipótesis nula y se establece que hay una igualdad de medias en el diámetro de 16 – 20 cm.

Tabla 28.

ANOVA de un factor del porcentaje de fertilidad de Lessonia nigrescens en el diámetro de rizoide de >21cm.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	grados de libertad	Cuadrados medios	f calculada	p – valor
Estación	*4266*	3	1421.9	2.219	0.163
Residuales	*5125*	8	640.7		

Nota: Elaboración Propia.

Considerando que la hipótesis nula de igualdad de medias (p > .005) y alterna de diferencia de medias (p < .005), se puede observar que el p – valor es 0,163 por ende, se acepta la hipótesis nula y se establece que hay una igualdad de medias en el diámetro de >21 cm.

Capítulo V

Discusión

En la presente investigación se evaluó el desempeño de dos tratamientos de cultivo que se diferenciaron principalmente por el tiempo de estrés hídrico a la que se sometió a la macroalga (3 y 6 horas), obteniendo los valores más de altos de esporulación el tratamiento (T1) en todos los diámetros de rizoide, con ello podemos inferir que a mayor tiempo de estrés hídrico es menor la cantidad de esporulación que obtendremos, estableciendo una relación indirectamente proporcional.

Con respecto a la germinación de esporas, a pesar de obtener resultados diversos en las 3 repeticiones por diámetro de rizoide, la prueba de ANOVA de un factor estableció que existía la igualdad de medias en todas las estaciones, ya que todos los p – valor superaron el nivel de significancia, por tanto, se puede inferir que la estación del año no influye de manera estadísticamente considerable en la germinación de esporas, debido a que no genera una variación significativa, considerando que todos las etapas de cultivo de la macroalga fue en laboratorio (un medio controlado), respaldaría los resultados obtenidos en la presente investigación.

Finalmente, en referencia al porcentaje de fertilidad, de igual manera que la germinación, la prueba de ANOVA de un factor estableció que existía la igualdad de medias en todas las estaciones, concluyendo y reafirmando que las estaciones del año no poseen una influencia significativa en el cultivo de la macroalga.

Referente al tiempo aplicado para la aplicación de estrés hídrico los investigadores Fonck, Venegas, Tala y Edding (1998) en su investigación sobre la Inducción artificial de la esporulación en Lessonia (Phaeophyta, Laminariales) aplico tres tiempos de deshidratación de 6,12 y 18 horas, donde tuvo mejores resultados con el tiempo de deshidratación de 6 horas. En comparación con la investigación realizada se obtuvo mejores resultados de esporulación con un tiempo de estrés hídrico de 3 horas.

Tal como asevera el investigador Ruiz (2012) en su trabajo de investigación acerca de "Viabilidad en el desarrollo de esporas de Lessonia nigrescens Boryi en relación a estacionalidad y procedencia, Norte y Sur de Chile" que el proceso de germinación no depende de la estacionalidad del año son del lugar de extracción, así también por otro lado en la investigación realizada podemos corroborar en los resultados, que la etapa de germinación de esporas no depende directamente de la estacionalidad.

Conclusiones

La tecnología de cultivo de la macroalga *Lessonia nigrescens* en medio controlado mostró buenos resultados en ambos tratamientos aplicados, cabe resaltar que el tratamiento (T1) presentó valores mayores de recuento de esporas que el tratamiento (T2) en todos los diámetros evaluados en la presente investigación.

La germinación de esporas de la macroalga *Lessonia nigrescens* fue constante en las diversas estaciones del año, lo que se demuestra con los resultados obtenidos en la prueba ANOVA de un factor que se ejecutó en la presente investigación, en la cual todos los p – valor superaron el nivel de significancia (0,05) concluyendo que la igualdad de medias en todas las estaciones.

El porcentaje de fertilidad de la macroalga *Lessonia nigrescens* fue constante en las diversas estaciones del año, lo que se demuestra con los resultados obtenidos en la prueba ANOVA de un factor que se ejecutó en la presente investigación, en la cual todos los p – valor superaron el nivel de significancia (0,05) concluyendo que la igualdad de medias en todas las estaciones.

Se concluye que la adaptación de tecnología de cultivo de *Lessonia nigrescens* en todas las etapas de investigación se dieron por exitosas, a su vez, se logró cumplir con las tres interrogantes especificas dando por cumplido la interrogante general.

Recomendaciones

Se recomienda, que en futuras investigaciones realizadas sobre la temática de la presente investigación, se realicen una mayor cantidad de ensayos, la variación de mayores variables involucradas en el cultivo y que abarque mayores especies de algas, con el objetivo de ampliar los conocimientos que se tienen acerca de esta temática de gran importancia.

Asimismo, se recomienda que, con la información de obtenida en la presente investigación, las autoridades y entes competentes gestionen la planificación de futuras estrategias, planes y programas correspondientes con el objetivo de impulsar el cultivo de algas en bajo medios controlados en laboratorio en la ciudad de Ilo.

Se sugiere continuar con la investigación utilizando distintos rangos de intensidad de luz, así como también trabajando con distintos fotoperiodos de cultivo de macroalgas.

Y que las etapas de germinación y fertilidad no dependen directamente de la estacionalidad, podría depender de la ubicación o lugar de procedencia de la extracción de los reproductores, para ello, se tendría que generar nuevos trabajos de investigación.

Referencias bibliográficas

Acleto, C. (1986). *Algas Marinas del Perú de Importancia Económica.* Serie de Div. Museo de Historia Natural "Javier Prado". Dep. de Botánica 5: 1-107.

Acleto, C.; Zúñiga, R. (1998). *Introducción a Las Algas*. Edit. Escuela Nueva S. A., Lima. Perú. 383 pp.

Bulboa, C., & Olivares, C. (s.f.). *Manual técnico para modulo demostrativo: Cultivo de Algas.* Universidad Carolina del Norte. Facultad de Ciencias del Mar., 9-12

Cancino y Santelices (1984). *Importancia ecológica de los discos adhesivos de Lessonia nigrescens Bory (Phaeophyta) en Chile central*. Departamento de Biología Ambiental y de Poblaciones, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile.

Chapman, V.J. and Chapman, D.J. (1980*) Evaluation of Biostimulants Added to Post Emergence Herbicides in Soybean. Seaweeds and Their Uses.* 3rd Edition, Chapman and Hall, Ltd., London.

Edding y Tala. 2003. *Desarrollo de técnicas para el cultivo de Lessonia trabeculata Villouta y Santelices (Phaeophycae: Laminariales) en Chile*. Departamento de Biología Marina. Universidad Catolica del Norte, Casilla 117. Coquinbo. Chile.

FAO (2018). El estado mundial de la pesca y la agricultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma. Licencia: CC BY-NC-SA.

Fonck, Venegas, Tala y Edding. (1998). *Inducciin artificial de la esporulación en lessonia (Phaeophyta,Laminariales).* Departamento de Biología Marina. Universidad Católica del Norte, Castilla 117, Coquimbo, Chile

IMARPE (2012). *Estudios sobre macroalgas pardas en el sur del Perú.* 2011-2015 Esquina Gamarra y General Valle s/n Casilla postal 22. Callao, Perú.

Hoffmann A.; Ávila M. & B. Santelices. 1984. *Interactions of nitrate and phosphate on the development of microscopic stages of Lessonia nigrescrens Bory (Phaeophyta).* J Exp Mar. Biol. Ecol. 78, 177–186.

Hoffmann, A. & B. Santelices (1997). *Flora Marina De Chile Central.* Ediciones Universidad Católica de Chile, Chile, 434pp

Hoffmann, A.J. & B. Santelices. 1982. *Effects of light intensity and nutrients on gametogenesis of Lessonia nigrescens Bory (Phaeophyta). J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 78, 177 – 186.

Lee y Brinkhuis. 1986. *Reproductive Phenology of Laminaria Saccharina (L).* Lamour. (Phaeophyta) at the Southern Limit of its distribution in the North Western Atlantic Ocean. Marine Sciences Research Center State University of New York, Stony Brook, New York I1794-50000

Murúa, P. A. (2010) *Estudios de los requerimientos de irradiancia y temperatura para las etapas mircroscopicas de Lessonia trabeculata (Phaeophyceae; Laminareales) de poblaciondes del norte y sur de Chile:Una variación estacional.* Universidad Austral de Chile Escuela de Acuicultura y Pesquerías para optar al grado de título de Ingeniero en Acuicultura.

PRODUCE (2016). *Anuario estadístico de pesca y acuicultura del 2015.* desempeño de la actividad pesquera.

PRODUCE (2018). *Desenvolvimiento productivo de la actividad pesquera 2018.* Desempeño de la actividad productiva acuícola.

PRODUCE (2018). *Desenvolvimiento productivo de la actividad pesquera 2018.* Desembarques.

Ramírez M. E. & B. Santelices. 1991. *Catálogo de las algas marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico de Sudamérica. Monografías biológicas 5,* Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago. 437p.

Romero. L; C. Paredes y R. Chávez. 1988. *Estructura de la macro fauna asociada a los rizoides de Lessollia sp. (Laminariales. Phaeophyta).* En: H, Salzwedel y A. Landa (eds.). Recursos y dinámica del ecosistema de afloramiento peruano, Bo/, Illst. Mar PerLÍ-Callao Vol. Extraor.: 133-139.

Ruiz, A. A. (2012) *Viabilidad en el desarrollo de esporas de Lessonia nigrescens Boryi en relacion a estacionalidad y procedencia, Norte y Sur de Chile.* Universidad Austral de Chile Escuela de Acuicultura y Pesquerías para optar al grado de título de Ingeniero en Acuicultura.

Santelices, B. 1991. *Intertidal and littoral ecocystems. En: A.C. Mathieson y P.H.* Nienhuis (eds.). Ecosystems of the World. Elsevier, Amsterdam, pp. 347-369

Tellier, Meynard, Correa C, Faugeron y Valero. (2009). *Phylogeographic analyses of the 30°S south-east Pacific biogeographic transition zone establish the occurrence of a sharp genetic discontinuity in the kelp Lessonia nigrescens: Vicariance or parapatry? UPMC Université Paris VI, UMR 7144, Equipe Evolution et Génétique des Populations Marines, LIA ‘‘DIAMS’’, Station Biologique de Roscoff, B.P. 74*

Vázquez y Tala. 1995. *Repoblamiento de áreas inter-marial con Lessonia nigrescens en el norte de Chile.* Departamento de Biología Marina, Universidad Católica del Norte, Casilla 117. Coquimbo. Chile.

Vásquez JA, JMA Vega & C Cerda. (2001) a. *Evaluaciones in situ del efecto de los desechos de la mine- ría en la biodiversidad de ambientes submareales someros del norte de Chile: ensambles de ma-croinvertebrados asociados a discos de adhesión de Lessonia trabeculata (Phaeophyta: Universidad de*

Concepción, Chile. En: Alveal K. & T. Antezana (eds) Sustentabilidad de la biodiversidad: 615-634.

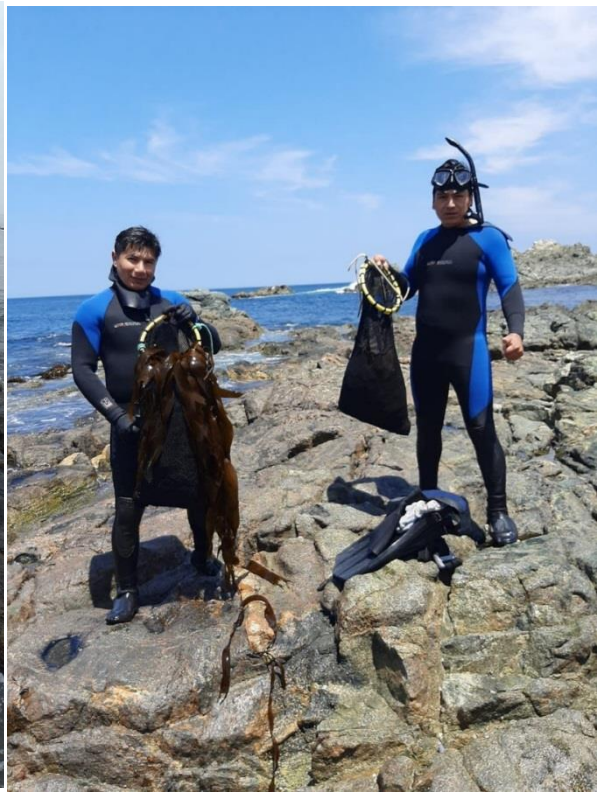
Villouta E. y B. Santelices. (1984). *Estructura de la comunidad submareal de Lessonia (Phaeophyta, Laminariales) en Chile norte y central*. Revista Chilena de Historia Natural 57:111-122

Vera, D. (2014). *Efecto de la extracción del alga Lessonia trabeculata, Villouta & Santelices, sobre el macrobentos en Marcona, Perú.* Tesis de magister. Universidad Nacional Agraria La Molina.

Anexos

Anexo 1. Anexo Fotográfico.

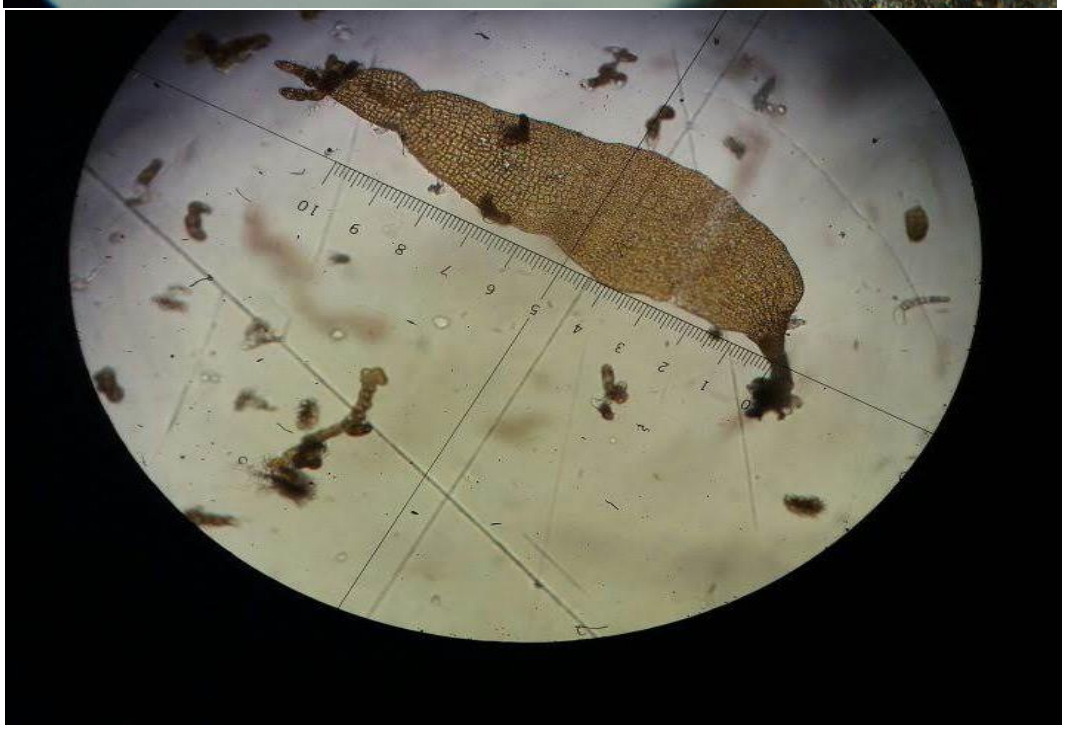
Punto de colecta de frondas reproductivas

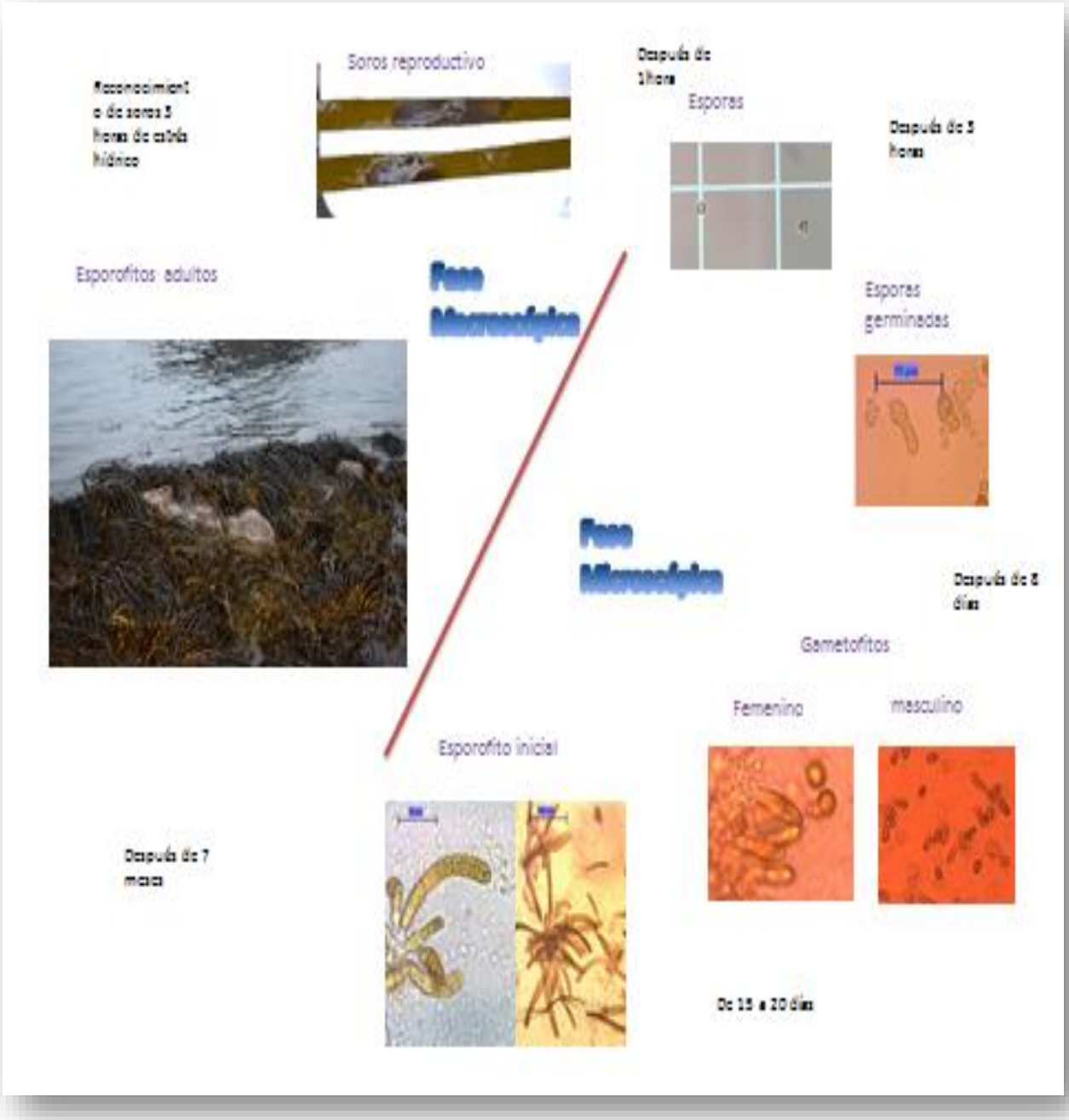


Colecta de macroalgas pardas por buceo apnea.

Selección y corte de soros reproductivos para su adecuación

Esporofitos iniciales



Adecuacion de soros reproductivos dentro del cooler

Elaboración propia sobre la fase microscópica y macroscópica de *Lessonia nigrescens*