



Evaluación en la formación de discos de fijación secundaria de *Chondracanthus chamissoi* (yuyo) en condiciones de cultivo semi-controladas

Evaluating the formation of secondary attachment discs of *Chondracanthus chamissoi* (yuyo) under semi-controlled cultivation conditions

Diocelina Huaman-Fernández^{1,2}, Paul M. Baltazar-Guerrero^{1,2*}, Samuel J. Arbaiza-Quispe² y Orlando Advíncula Zeballos²

0000-0002-1865-4841

0000-0003-4071-4772

0000-0001-6258-429X

0000-0003-2042-7872

1. Carrera de Biología Marina, Ciencias Veterinarias y Biológicas, Universidad Científica del Sur, Lima 15067, Perú. 180000539@cientifica.edu.pe
2. Grupo de Investigación en Acuicultura Sostenible, Laboratorio de Investigación en Cultivos Marinos (Licma), Dirección General de Investigación, Desarrollo e Innovación, Universidad Científica del Sur, Lima 15067, Perú. pbaltazar@cientifica.edu.pe*; arbaiza.samuel@gmail.com; orlandoad@gmail.com

* Autor de correspondencia / Corresponding autor

RESUMEN

C*hondracanthus chamissoi* es un alga de importancia comercial usada como materia prima en el consumo humano directo y en la extracción de carragenina. Esta especie es cultivada vía propagación vegetativa y/o mediante la producción de esporas; sin embargo, hay una falta de información sobre las técnicas para el manejo en etapas iniciales en la formación de discos de fijación secundaria (DFS) en laboratorio. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la formación de DFS en función de distintos tratamientos de cultivo inicial, empleando como sustrato natural valvas de *Argopecten purpuratus* para la fijación de los DFS, variando factorialmente el inóculo (alga lavada y sin lavar), el manejo del sustrato (biologizado y sin biologizar) y el agua (tratada y sin tratar). Los resultados mostraron una mayor formación de DFS de *C. chamissoi* en los tratamientos donde el alga era lavada y se contabilizaron un rango de 1 a 21 DFS / valva en promedio. Por otro lado, se observó un aumento significativo de DFS en la interacción de los tratamientos donde el agua era clorada y sin clorar o con sustrato biologizado y sin biologizar. Por lo tanto, se considera que realizar protocolos de limpieza en etapas iniciales es primordial para este tipo de cultivo por propagación vegetativa.

PALABRAS CLAVES: *Chondracanthus chamissoi*, propagación vegetativa, discos de fijación secundaria.

ABSTRACT

C*hondracanthus chamissoi* is a commercially important algae used as raw material in direct human consumption and carrageenan extraction. This species is cultivated via vegetative propagation and through the production of spores; however, there is a lack of information on techniques for early-stage secondary attachment discs (SAD) formation under laboratory conditions. The present work aimed to determine the formation of DFS in function of different initial cultivation conditions, using *Argopecten purpuratus* shells as natural substrate for the SAD fixation, factorially varying the inoculum (washed algae and unwashed), the type of substrate (biologized; unbiologized) and the water (treated, untreated). Our results showed significant SAD formation of *C. chamissoi* in the treatments where the algae were washed and average of 1 - 21 SAD / shell was accounted. On the other hand, a significant increase in SAD is observed in the interaction of the treatments where the water was treated and untreated water or biologized and unbiologized. Therefore, we consider that cleaning protocols in the initial stages is essential for this type of cultivation by vegetative propagation.

KEYWORDS: *Chondracanthus chamissoi*, vegetative propagation, Secondary Attachment Discs.

INTRODUCCIÓN

Chondracanthus chamissoi, o “yuyo”, es un alga roja que pertenece al Phylum Rhodophyta, grupo taxonómico con el mayor número de especies registradas en el Perú, y que cuenta con 185 de las 260 especies registradas últimamente (Ávila-Peltroche y Padilla-Vallejos, 2020). Esta macroalga se distribuye, desde Piura-Paita, Perú (5° S) hasta Ancud, Chile (42° S) (Ramírez y Santelices, 1991; Calderón *et al.*, 2010; Macchiavello *et al.*, 2017), crecen adheridas al sustrato duro (Otaíza y Cáceres, 2015), en la zona del intermareal inferior y submareal hasta 15 m de profundidad (Bulboa y Macchiavello, 2006). En el Perú, es considerada una de las algas rojas más abundantes del litoral, y posee una alta demanda en los mercados locales principalmente en consumo humano directo y en menor escala para la extracción de carragenanos; estas pueden ser comercializadas en estado fresco (4 %) y curado (96 %) (Pariona y Gil-Kodaka, 2011; Castañeda *et al.*, 2018; Espi *et al.*, 2019; Ávila-Peltroche y Padilla-Vallejos, 2020; Basaure *et al.*, 2021; Produce, 2021). Cabe indicar que los volúmenes de desembarque de macroalgas se han incrementado a lo largo de los años con un aumento importante entre 2010 (4368 ton) a 2021 (50480 ton) respectivamente, lo que representa un crecimiento importante aumentando en 12 veces los volúmenes de desembarques en los últimos 11 años (Produce, 2019, 2021).

Debido a su importancia comercial, *C. chamissoi* ha sido estudiada desde hace más de 20 años, con el objetivo de viabilizar su cultivo en el mar, destacando los avances realizados mediante su cultivo por propagación vegetativa (Macchiavello *et al.*, 2003, 2017; Bulboa y Macchiavello, 2006; Pariona y Gil-Kodaka, 2011; Arbaiza, 2016; Colque, 2017; Zapata-Rojas *et al.*, 2020; Basaure *et al.*, 2021; Oyarzo *et al.*, 2021). Esta técnica de cultivo consiste en la formación de nuevos brotes a partir de un inóculo inicial o planta madre, que se obtiene al fijar el alga sobre un sustrato natural y/o artificial, que posteriormente será puestos en sistemas de cultivo marino, ya sea en fondo o suspendido (Sáez *et al.*, 2008; Arbaiza, 2016; Basaure *et al.*, 2021). El cultivo por propagación vegetativa tiene la ventaja de poder realizarse durante todo año, por no depender de individuos con estructuras reproductivas, convirtiéndose en una metodología sencilla y de menor inversión respecto al cultivo vía esporas (Macchiavello *et al.*, 2012). Otra de sus mayores fortalezas es la producción de biomasa en un tiempo corto y utilizando técnicas o tecnologías de baja complejidad (Bulboa *et al.*, 2013; Saez y Macchiavello, 2018; Basaure *et al.*, 2021).

INTRODUCTION

Chondracanthus chamissoi, or “yuyo”, is a red alga belonging to the phylum Rhodophyta, the taxonomic group with the largest number of species recorded in Peru (185 out of the 260 species in recent reports) (Ávila-Peltroche and Padilla-Vallejos, 2020). This seaweed is distributed from Piura, Paita, Peru (5° S), to Ancud, Chile (42° S) (Ramírez and Santelices, 1991; Calderón *et al.*, 2010; Macchiavello *et al.*, 2017). It grows while attached to hard substrate (Otaíza and Cáceres, 2015) in the inferior intertidal and subtidal zones down to 15 m deep (Bulboa and Macchiavello, 2006). In Peru, it is considered to be one of the most abundant red seaweeds in the littoral, and it is in high demand in local markets, mainly for direct human consumption and, to a lesser extent, for the extraction of carrageenans; these seaweeds can be commercialized in both fresh (4 %) and cured (96 %) states (Pariona and Gil-Kodaka, 2011; Castañeda *et al.*, 2018; Espi *et al.*, 2019; Ávila-Peltroche and Padilla-Vallejos, 2020; Basaure *et al.*, 2021; Produce, 2021). It is worth indicating that the volumes of seaweeds landings have increased over the years, *i.e.*, between 2010 (4368 ton) and 2021 (50480), which amounts to 12 times the landing volumes of the last 11 years (Produce, 2019, 2021).

Given its commercial importance, *C. chamissoi* has been studied for more than 20 years with the purpose of making its cultivation at sea feasible, wherein the advances made in vegetative propagation stand out (Macchiavello *et al.*, 2003, 2017; Bulboa and Macchiavello, 2006; Pariona and Gil-Kodaka, 2011; Arbaiza, 2016; Colque, 2017; Zapata-Rojas *et al.*, 2020; Basaure *et al.*, 2021; Oyarzo *et al.*, 2021). This cultivation technique involves the formation of new shoots from an initial inoculum or mother plant, which is achieved by fixating the seaweed to a natural and/or artificial substrate. This substrate is subsequently placed in either bottom or suspended marine cultivation systems (Sáez *et al.*, 2008; Arbaiza, 2016; Basaure *et al.*, 2021). One of the advantages of cultivation by vegetative propagation is that it can be performed throughout the year, as it does not depend on individuals with reproductive structures. This makes it a simple methodology that requires lower investments in comparison with spore-based cultivation (Macchiavello *et al.*, 2012). One of its main strengths is also the production of biomass in short periods of time, in addition to the fact that it utilizes low-complexity techniques and technologies (Bulboa *et al.*, 2013; Saez and Macchiavello, 2018; Basaure *et al.*, 2021).

Entre algunas de las desventajas y/o dificultades que presenta este tipo de cultivo, es que se necesita abundante biomasa proveniente de praderas naturales (Bulboa *et al.*, 2013), considerando las pérdidas de biomasa por la presencia de epífitos y/o de sedimentos en las muestras colectadas (Arbaiza *et al.*, 2016). Esta pérdida puede significar la disminución del inóculo inicial, conllevando a una mayor extracción de biomasa originaria de praderas naturales (Oyarzo *et al.*, 2021), lo que, en combinación con la extracción pesquera del recurso, provoca una reducción de la disponibilidad o productividad de las praderas en el tiempo (Flores *et al.*, 2015).

Bajo este contexto, diversos autores han señalado que para optimizar la formación de los DFS en un cultivo por propagación vegetativa, se debe tener en cuenta el tratamiento previo del inóculo inicial (limpieza con agua dulce y eliminación de epífitos o sedimento), el tratamiento del agua (filtrada, clorada y esterilizada) y el del sustrato (formación o limpieza del biofilm) (Icochea, 2008; Arbaiza, 2016; Colque, 2017; Macchiavello *et al.*, 2017; Arbaiza *et al.*, 2019; Suárez, 2019; Zapata-Rojas *et al.*, 2020; Oyarzo *et al.*, 2021). Para fines productivos, no se tiene claro cuál es el efecto de realizar estos procesos y además los protocolos relacionados a la limpieza y tratamiento del agua con cloro son escasos; por ello, el presente estudio tiene como finalidad evaluar la formación de DFS en función al manejo del sustrato, al tratamiento del inóculo y al tratamiento del agua de mar, en condiciones de cultivo para contribuir en la optimización de las fases iniciales del cultivo, mediante la propagación vegetativa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Las muestras de *C. chamissoi* fueron recolectadas de la playa Mendieta, ubicada en la Reserva Nacional de Paracas en el distrito de Paracas, provincia de Pisco, departamento de Ica en Perú, el 18 de julio de 2020 a través de buceo autónomo (14°3'38.54" S; 76° 15' 54.72" O) (Figura 1). Realizada la colecta de algas, éstas fueron transportadas en contenedores térmicos aislados a 10 °C al Laboratorio de Investigación en Cultivos Marinos (Licma) de la Universidad Científica del Sur, ubicado en el distrito de San Andrés, provincia de Pisco, departamento de Ica en Perú. Una vez en el laboratorio, se seleccionaron las algas en estado vegetativo (individuos sin estructuras reproductivas visibles), como sugieren Macchiavello *et al.* (2012).

Among the disadvantages and/or difficulties of this form of cultivation is the fact that it requires abundant biomass from natural beds (Bulboa *et al.*, 2013), considering the biomass losses caused by the presence of epiphytes and/or sediment in the samples collected (Arbaiza *et al.*, 2016). These losses may entail the reduction of the initial inoculum, leading to a greater extraction of biomass from natural beds (Oyarzo *et al.*, 2021). This, in combination with the fishing extraction of the resource, reduces the availability and productivity of beds over time (Flores *et al.*, 2015).

In this context, several authors have pointed out that, in order to optimize the formation of secondary attachment discs (SADs) in a vegetative propagation culture, one must consider the previous treatment of the initial inoculum (cleaning with freshwater and elimination of epiphytes or sediment), as well as that of the water (filtration, coloration, and sterilization) and the substrate (formation or cleaning of the biofilm) (Icochea, 2008; Arbaiza, 2016; Colque, 2017; Macchiavello *et al.*, 2017; Arbaiza *et al.*, 2019; Suárez, 2019; Zapata-Rojas *et al.*, 2020; Oyarzo *et al.*, 2021). For productive purposes, the effect of these processes is unclear, and protocols related to water cleaning and treatment with chlorine are scarce. Therefore, this work aims to evaluate the formation of SADs as a function of substrate handling and inoculum and seawater treatment, with the purpose of contributing to the optimization of the initial stages of cultivation via vegetative propagation.

MATERIALS AND METHODS

Study area

C. chamissoi samples were collected at Mendieta beach, located in the Paracas National Reserve (Paracas district, Pisco province, department of Ica, Peru), on July 18th, 2020, by means of autonomous diving (14°3'38.54" S; 76° 15' 54.72" O) (Figure 1). After collection, the seaweeds were transported in isolated thermal containers at 10 °C to Universidad Científica del Sur's Laboratorio de Investigación en Cultivos Marinos (Licma), located in the district of San Andrés, Pisco province, department of Ica, Peru. Upon arriving at the laboratory, the algae in vegetative state were selected (individuals with no visible reproductive structures), as suggested by Macchiavello *et al.* (2012).

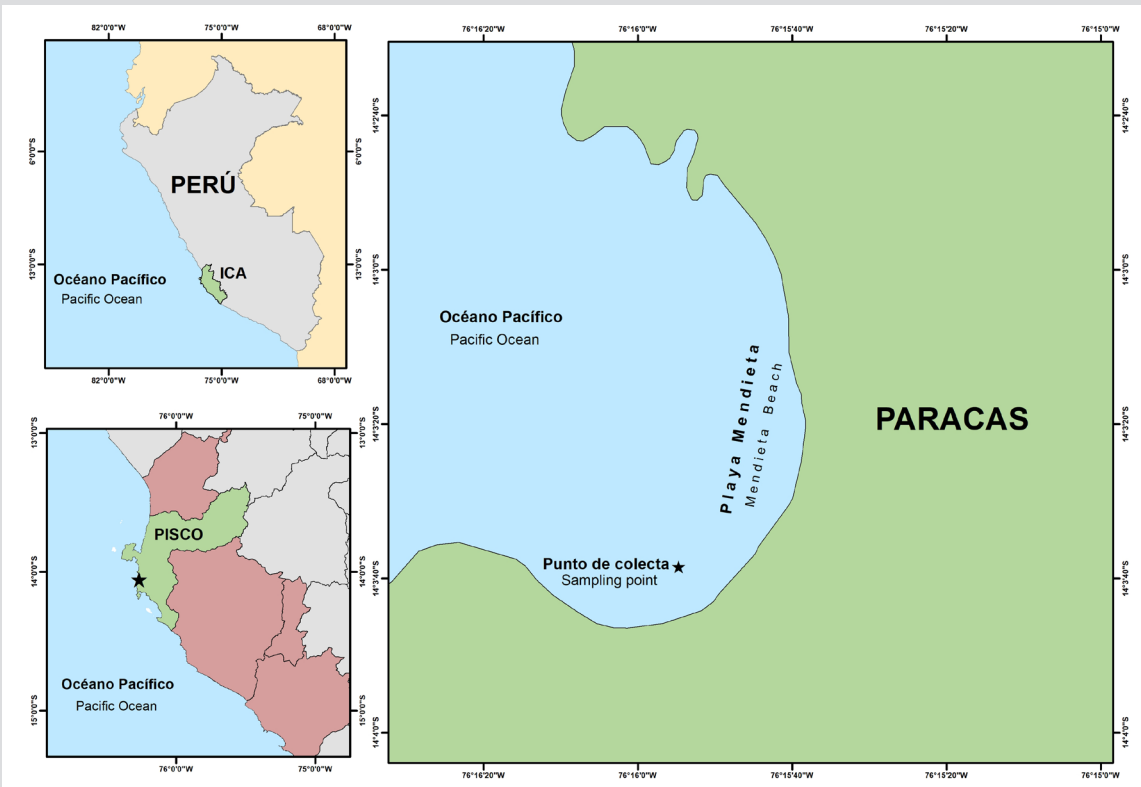


Figura 1. Mapa de ubicación del punto de colecta de *C. chamissoi* en playa Mendieta, Ica – Perú (14°3'38.54" S; 76 ° 15' 54.72" O).

Figure 1. Location of the *C. chamissoi* sampling point at Mendieta beach, Ica, Peru (14°3'38.54" S; 76 ° 15' 54.72" O)

Diseño experimental

Se trabajó con ocho tratamientos (cuatro repeticiones por cada tratamiento) donde se evaluó: el tratamiento del sustrato (biologizado y sin biologizar), el tratamiento previo del alga (con lavado y sin lavar) y el del medio de cultivo (agua tratada y sin tratar) (Tabla 1).

Tabla 1. Diseño experimental con datos factoriales. Tratamiento del inóculo, alga lavada (L) o sin lavado (S); sustrato biologizado (B) o sin biologizar (S) y agua tratada (CI) o sin tratar (S).

Tratamiento / Treatment	Alga / Algae	Sustrato / Substrate	Agua / Water	Réplicas / Repetitions
T1	Lavado (L) / Washed (L)	Biologizado (B) / Biologized (B)	Agua tratada (CI) / Treated water (CI)	4
T2	Lavado (L) / Washed (L)	Biologizado (B) / Biologized (B)	Agua sin tratar (S) / Untreated water (S)	4
T3	Lavado (L) / Washed (L)	Sin Biologizar (S) / Non-biologized (S)	Agua tratada (CI) / Treated water (CI)	4
T4	Lavado (L) / Washed (L)	Sin Biologizar (S) / Non-biologized (S)	Agua sin tratar (S) / Untreated water (S)	4
T5	Sin Lavar (S) / Unwashed (S)	Biologizado (B) / Biologized (B)	Agua tratada (CI) / Treated water (CI)	4
T6	Sin Lavar (S) / Unwashed (S)	Biologizado (B) / Biologized (B)	Agua sin tratar (S) / Untreated water (S)	4
T7	Sin Lavar (S) / Unwashed (S)	Sin Biologizar (S) / Non-biologized (S)	Agua tratada (CI) / Treated water (CI)	4
T8	Sin Lavar (S) / Unwashed (S)	Sin Biologizar (S) / Non-biologized (S)	Agua sin tratar (S) / Untreated water (S)	4

Experimental design

Eight treatments (with four repetitions each) were employed, evaluating the substrate treatment (biologized and non-biologized), the previous algae treatment (washed and unwashed), and the culture medium (treated and untreated water) (Table 1).

Table 1. Experimental design with factorial data. Inoculum treatment; washed (L) or unwashed (S) algae; biologized (B) or non-biologized (S) substrate; and treated (CI) or untreated (S) water.

Tratamiento del sustrato

Se utilizaron valvas de *Argopecten purpuratus* (sustrato natural), las cuales fueron esterilizadas con hipoclorito de sodio al 1 % durante 10 min (Arbaiza, 2016) y posteriormente procesadas de dos formas diferentes: a) Sustrato biologizado, 16 valvas se sumergieron verticalmente en tinas de incubación de 3.2 m³ con agua de mar por 15 días para propiciar la formación de biopelículas (biofilm) (Figura 2). El agua de las tinas fue mantenida a una temperatura de 20 - 21 °C, salinidad 35 - 36 ups, fotoperiodo 8:12 (luz:oscuridad) y abundante aireación. b) Sustrato sin biologizar, las 16 valvas fueron guardadas directamente luego del proceso de desinfección en bolsas herméticas (ziploc) para su posterior uso.

Substrate treatment

Shells of *Argopecten purpuratus* (natural substrate) were used, which were sterilized with 1 % sodium hypochlorite for 10 min (Arbaiza, 2016) and subsequently processed in two different ways: a) biologized substrate: 16 shells were vertically submerged in 3.2 m³ incubation tanks with seawater for 15 days in order to promote the formation of biofilms (Figure 2). The water in the tanks was maintained at a temperature of 20 - 21 °C, a salinity of 35 - 36 ups, a photoperiod of 8:12 (light:darkness), and abundant aeration; b) non-biologized substrate: the 16 shells were stored in hermetic bags (Ziplock) directly after the disinfection process for later use.

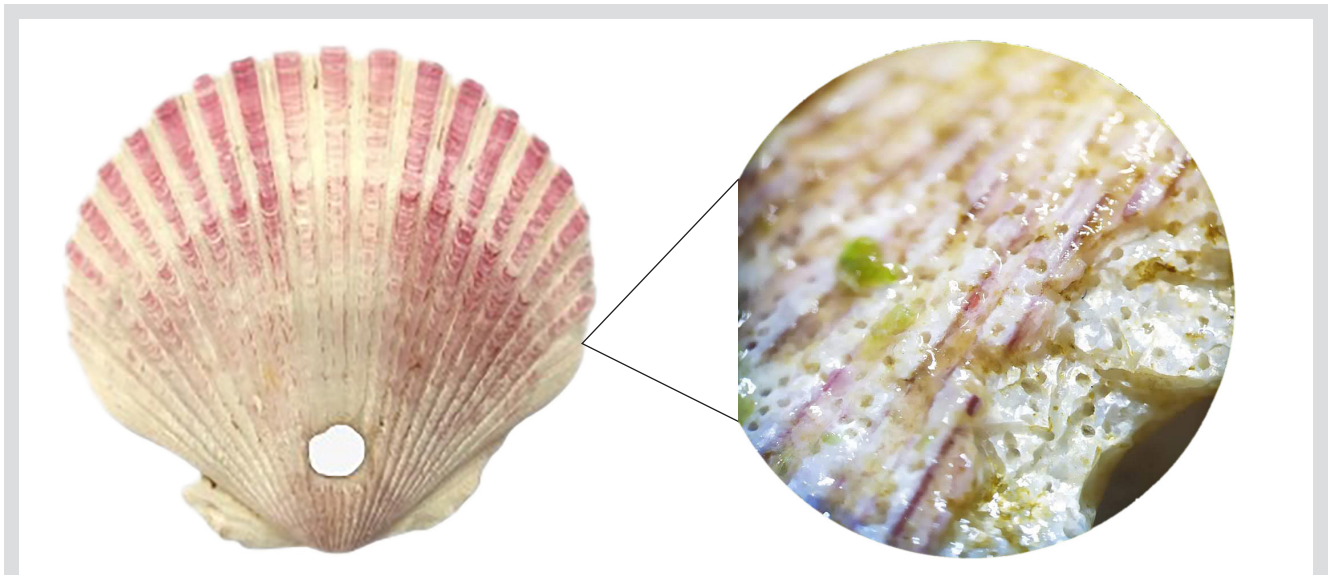


Figura 2. Tratamiento del sustrato, sin biologizado y biologizado con formación de biofilms.

Figure 2. Substrate treatment, non-biologized and biologized with biofilm formation.

Tratamiento del agua

El agua de mar fue recolectada de la playa San Andrés y acondicionada en el Licma a una temperatura de 16 - 17 °C, salinidad 35 - 36, fotoperiodo 8:16 (luz: oscuridad) e intensidad lumínica 2300 lux. Posteriormente el agua fue tratada de dos formas diferentes: a) Agua tratada, mediante la adición de hipoclorito de sodio a una concentración de 2 % por 1000 mL de agua de mar, posteriormente se dechloró con tiosulfato de sodio a una concentración de 1 mL por 4 mL de Cl (Murray *et al.*, 2018), proveniente de una solución madre de tiosulfato al 25 %. b) Agua sin tratar, no se realizó ningún procedimiento.

Water treatment

Seawater was collected from San Andrés beach and conditioned at Licma at a temperature of 16 - 17 °C, a salinity 35 - 36 ups, a photoperiod of 8:16 (light:darkness), and a light intensity of 2300 lux. Afterwards, the water was treated in two different ways. a) The water was treated by adding sodium hypochlorite at a concentration of 2 % for every 1000 mL of seawater. It was then dechlorinated with sodium thiosulfate, using 1 mL for every 4 mL of Cl (Murray *et al.*, 2018), from a mother solution of 25 % thiosulfate. b) The water was left untreated, and no procedures were carried out.

Tratamiento del alga

En laboratorio las muestras de algas pasaron por un proceso de limpieza mecánica para eliminar los epífitos o residuos de sedimentos adheridos a las estructuras de los individuos y luego fueron procesadas de dos formas diferentes: a) alga lavada, se lavaron brevemente los especímenes con una solución de hipoclorito de sodio al 1 % por 30 seg y luego con agua dulce por 1 min para eliminar el residuo químico. b) Alga sin lavar, no se realizó ningún procedimiento.

Fijación del alga al sustrato e incubación.

Los individuos en estado vegetativo fueron pesados en una balanza analítica agregando 7 g de *C. chamissoi* (peso húmedo) para cada unidad experimental, considerando las características morfológicas descritas por Arbaiza *et al.* (2023). Seguidamente se fijaron sobre el sustrato (valva de *A. purpuratus*) utilizando una liga para propiciar el contacto del alga con la superficie garantizando una generación adecuada de DFS. Posteriormente, los sustratos con las algas fijadas fueron instalados en los sistemas de cultivo por 38 días (frascos de 1L con 800 mL de agua de mar) y mantenidos en condiciones de 17 - 19 °C de temperatura, fotoperiodo de 12:12 (luz:oscuridad, 2300 lux), aireación constante, dos recambios de agua semanales y adicionalmente se les agregó un nutriente foliar comercial (Bayfolan ®) a una razón de 0.2 mL por 1 L de agua de mar (Castañeda *et al.*, 2018). Una vez terminada la etapa experimental, se retiraron los inóculos sobre las valvas con ayuda de un bisturí, seguidamente se procedió a pesar (peso húmedo) los individuos vegetativos. Finalmente se determinó el número total de DFS por valva, mediante conteo directo utilizando un estereoscopio modelo Leica EZ4E; cabe señalar que solo se contabilizaron los DFS que se fijaron en las valvas, y las fotos a mayor aumento permitieron corroborar que durante el conteo no se perdiera algún DFS y, además, permitió observar a detalle la formación de estas estructuras sobre las valvas (Figura 3).

Análisis estadístico

Se realizaron pruebas de hipótesis utilizando un modelo de regresión binomial negativa por tratarse de una variable de conteo, para analizar los datos de la formación de discos de fijación secundaria y se encontró con la prueba de Shapiro-Wilk que los datos presentan una distribución normal ($p > 0.05$) y también una homogeneidad de varianzas. El análisis de la información y los gráficos fueron realizados en los programas de R4.2.0 (Copyright © 2022) y Excel 2016 (© Microsoft bajo licencia).

Algae treatment

In the laboratory, the algae samples underwent a mechanical cleaning process aimed at eliminating epiphytes or sediment residues adhered to the individuals' structures, and they were then processed in two different ways: a) unwashed algae: the specimens were briefly washed with a 1 % sodium hypochlorite solution for 30 s, and then with freshwater for 1 min to eliminate chemical residues; b) unwashed algae: no procedure was carried out.

Fixating the algae to the substrate and incubation

The individuals in vegetative state were weighted in an analytical balance, adding 7 g of *C. chamissoi* (wet weight) to each experimental unit, considering the morphological characteristics described by Arbaiza *et al.* (2023). Next, they were attached the substrate (*A. purpuratus* shell) using a rubber band to promote contact between the seaweed and the surface, ensuring proper DFS generation. Then, the substrates with the fixated algae were placed in cultivation systems for 38 days (1 L flasks with 800 mL of seawater) and maintained under the following conditions: a temperature of 17 - 19 °C, a photoperiod of 12:12 (light:darkness, 2300 lux), constant aeration, and two water replacements on a weekly basis. In addition, a commercial foliar nutrient (Bayfolan ®) was added, at a ratio of 0.2 mL for every 1 L of seawater (Castañeda *et al.*, 2018). Once the experimentation phase was complete, the inocula were removed from the shells using a scalpel, and the vegetative individuals were then weighted (wet weight). Finally, the total number of SADs per shell was determined by direct counting, employing a Leica EZ4E stereoscope. It is worth noting that only the SADs that were attached to the shells were counted, and higher magnification photos allowed confirming that no SAD was lost during the count while also allowing to observe the formation of these structures on the shells in detail (Figure 3).

Statistical analysis

Hypothesis tests were performed using a negative binomial regression model, as we were dealing with a count variable, in order to analyze the formation of secondary attachment discs. By means of a Shapiro-Wilk test, the data were found to exhibit a normal distribution ($p > 0.05$) and variance homogeneity. The analysis of the information and the elaboration of graphs were carried out in the R4.2.0 software (copyright © 2022) and Excel 2016 (Microsoft, under license).

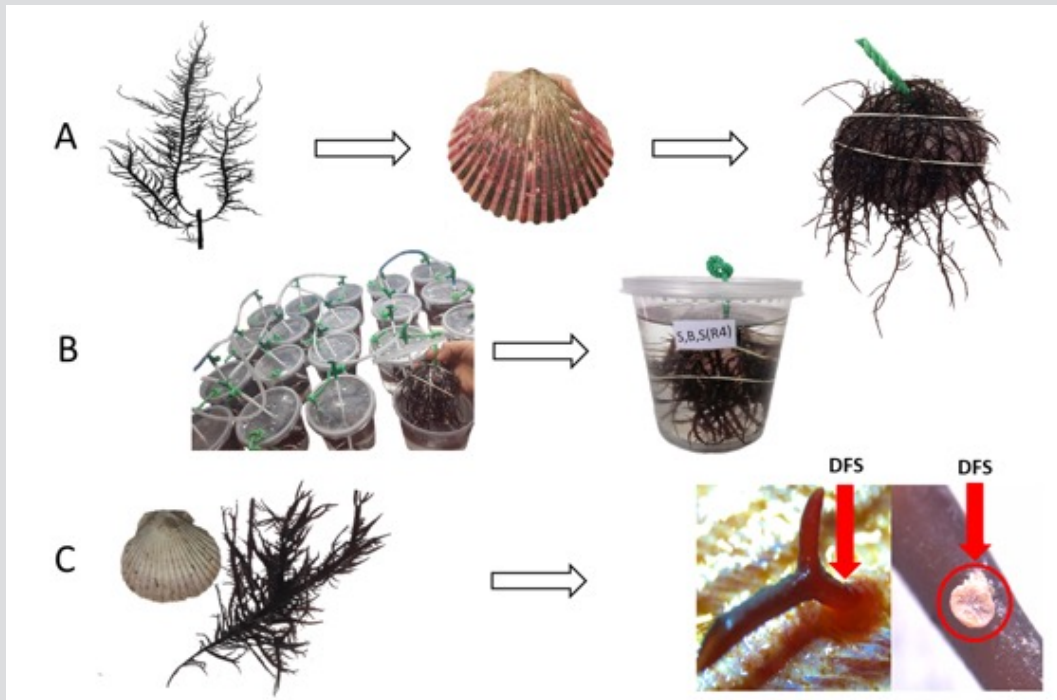


Figura 3. Proceso experimental de cultivo de *C. chamissoi* por propagación vegetativa. **A.** Fijación del inóculo sobre la valva de *A. purpuratus*. **B.** Sistema de incubación y desarrollo de los discos de fijación secundaria (DFS). **C.** Retiro del inóculo y observación de los DFS.

Figure 3. Experimental process for the cultivation of *C. chamissoi* via vegetative propagation. **A.** Fixation of the inoculum onto an *A. purpuratus* shell. **B.** Incubation system and formation of secondary attachment discs (SADs). **C.** Removal of the inoculum and observation of the SADs.

RESULTADOS

Se ha evidenciado con las pruebas estadísticas que los valores de DFS son significativamente diferentes en el tratamiento entre algas sin lavar y lavadas ($p = 0.03921$), pero no así en los tratamientos del sustrato y del agua usada como medio de cultivo. Sin embargo, se puede apreciar una interacción entre el tratamiento del alga con el sustrato ($p = 0.03079$) y el tratamiento del sustrato con el agua ($p = 0.01559$). Por otro lado, se obtuvo un cociente de desviación sobre los grados de libertad (24) de 1.406, lo que indica un buen ajuste del modelo (Tabla 2).

Tabla 2. Tabla multifactorial de los tratamientos y las interacciones entre ellos.

	Residuales de desviación / Residuals of deviation	Desviación de residuales / Deviation of residuals	Pr (> Chi)
Algas / Algae	4.2519	48.440	0.03921 *
Sustrato / Substrate	0.3010	48.139	0.58324
Agua / Water	0.2341	47.905	0.62846
Algas: Sustrato / Algae: Substrate	4.6647	43.240	0.03079 *
Agua: Algas / Water: Substrate	1.6561	41.584	0.19814
Sustrato: Agua / Substrate: Water	5.8480	35.736	0.01559 *
Agua-Sustrato-Alga / Water-Substrate-Algae	1.9795	33.756	0.15944

RESULTS

Through the statistical tests, it was evidenced that the SAD values are significantly different for unwashed and washed algae ($p = 0.03921$), which is not the case for the substrate treatments and the water used as culture medium. However, interaction between the algae treatment and the substrate can be observed ($p = 0.03079$) and between the substrate treatment and the water ($p = 0.01559$). On the other hand, a deviation quotient of 1.406 over the degrees of freedom (24) was obtained, indicating a good model fit (Table 2).

Table 2. Multifactorial table for the treatments and the interaction between them

En la figura 4 se puede observar, según el tratamiento de las algas, que las lavadas presentaron mayor formación de DFS en función a los tratamientos que presentaron algas sin lavar. Las medias de las algas sin lavado fueron de 0.584 ± 0.343 y de las algas lavadas fueron de 1.282 ± 0.382 .

Figure 4 shows that, depending on the treatment, the washed algae exhibited a greater formation of SADs in comparison with the treatments involving unwashed algae. The means of the unwashed algae were 0.584 ± 0.343 , and that of the washed ones was 1.282 ± 0.382 .

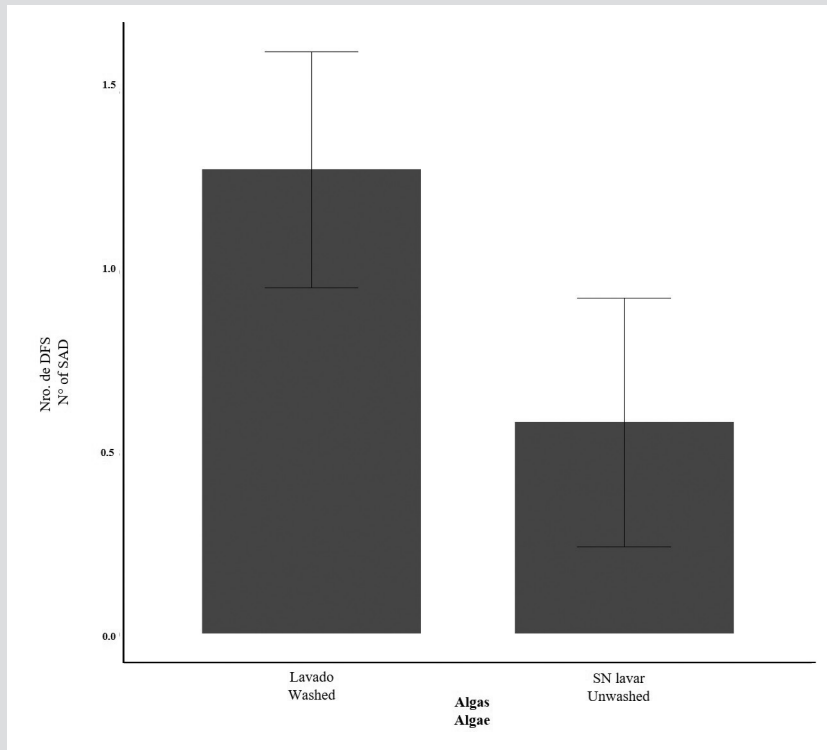


Figura 4. Cantidad de discos de fijación secundaria (DFS) en función del tratamiento del alga (lavada y sin lavar).

Figure 4. Number of secondary attachment discs SADs per algae treatment (washed and unwashed)

En la figura 5 se puede observar que hubo una interacción del tratamiento del alga con el sustrato, en la cual el tratamiento del alga lavada con sustrato biologizado presentó medias similares de 1.903 ± 0.395 al tratamiento de las algas sin lavar y el sustrato sin biologizar (1.313 ± 0.412). Por otro lado, la interacción del alga lavada con sustrato sin biologizado presentó menores medias de 0.661 ± 0.519 , similares al tratamiento del alga sin lavar y sustrato biologizado (-0.144 ± 0.550).

Figure 5 shows that there was interaction between the algae treatment and the substrate, wherein washed algae and biologized substrates exhibited similar means (1.903 ± 0.395) to those of unwashed algae and non-biologized substrates (1.313 ± 0.412). On the other hand, the interaction between washed algae and non-biologized substrates reported lower means (0.661 ± 0.519), similar to those of unwashed algae and biologized substrates (-0.144 ± 0.550).

En la figura 6 se puede visualizar la interacción del tratamiento del agua con el sustrato, en el cual: el tratamiento del agua clorada y el sustrato sin biologizar presentaron medias similares (1.597 ± 0.404) al tratamiento del agua sin clorar con sustrato biologizado (1.354 ± 0.404). Por otro lado, también se puede apreciar que el agua clorada con el sustrato biologizado presentó medias similares (0.405 ± 0.524) que el agua sin clorar con el sustrato sin biologizar (0.377 ± 0.525).

Figure 6 shows the interaction between water treatment and substrate. Here, the chlorinated water treatment the non-biologized substrate exhibited similar means (1.597 ± 0.404) to those of unchlorinated water and the biologized substrate (1.354 ± 0.404). It can also be observed that the chlorinated water and the biologized substrate reported similar means (0.405 ± 0.524) to those of unchlorinated water and the non-biologized substrate (0.377 ± 0.525).

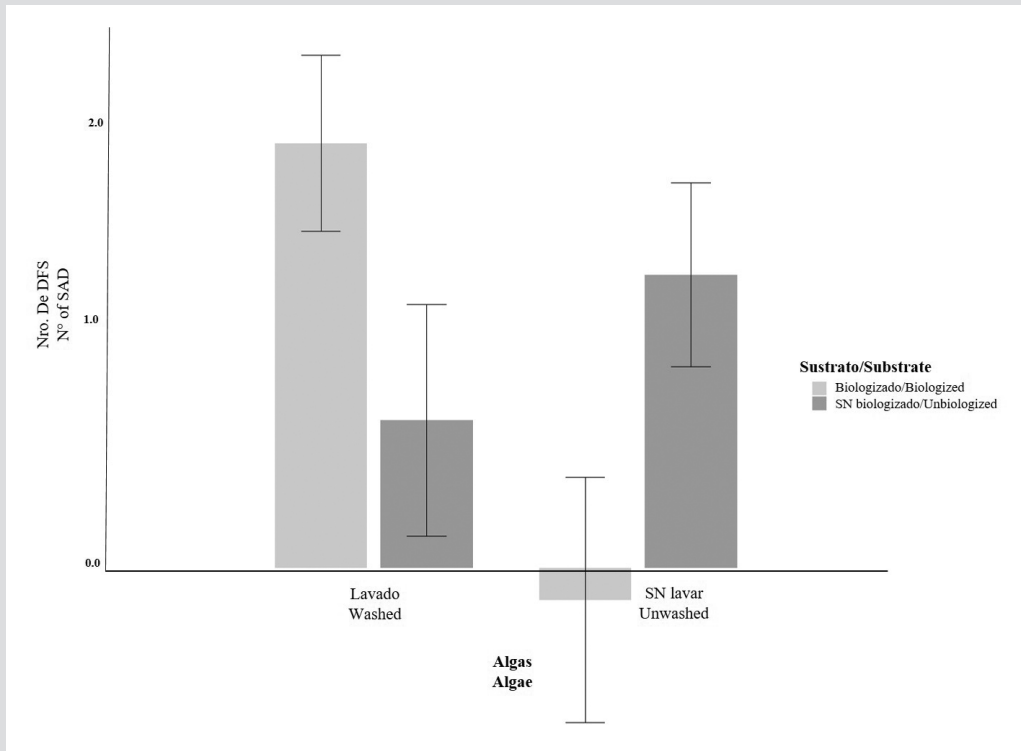


Figura 5. Cantidad de DFS en función a la interacción del tratamiento del alga (lavado y sin lavado) y del sustrato (biologizado y sin biologizar).

Figure 5. Number of SADs as a function of the interaction between the algae treatment (washed and unwashed) and the substrate (biologized and non-biologized)

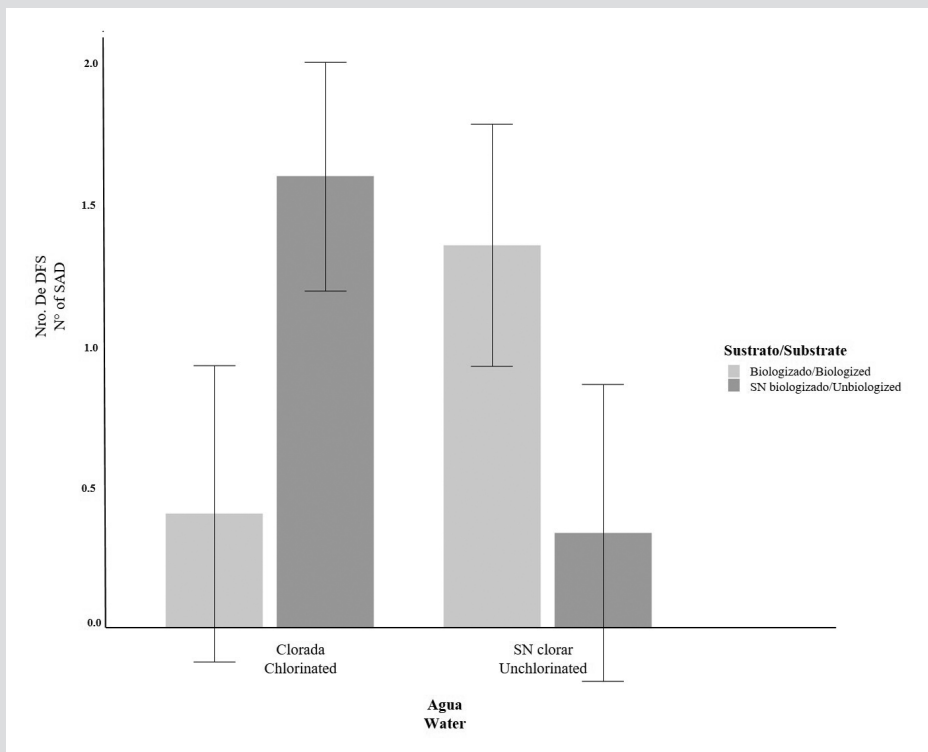


Figura 6. Cantidad de DFS en función a la interacción del tratamiento del agua (clorada y sin clorar) y del sustrato (biologizado y sin biologizar).

Figure 6. Number of SADs as a function of the interaction between the water treatment (chlorinated and unchlorinated) and the substrate (biologized and non-biologized)

DISCUSION

Chondracanthus chamissoi presenta diversas estrategias reproductivas, como la propagación por esporas y la readhesión por fragmentación del talo, que le permiten mantenerse en su ambiente natural durante todo el año (Acleto, 1986; Alveal, 2001; Vásquez y Vega, 2001; Riofrío, 2003; Fonck *et al.*, 2008). La formación de DFS no solo permite el anclaje de las frondas a la deriva de *C. chamissoi*, sino que también juega un papel importante en poder propagarse a nuevas áreas de cultivo ante la presencia de un medio en condiciones ambientales estresantes para el cultivo de algas rojas (Pacheco-Ruiz *et al.*, 2005; Sáez *et al.*, 2008). En este estudio todos los tratamientos formaron DFS (de 1 a 21 DFS / valva) a los 38 días de cultivo, datos similares a los obtenidos por otros investigadores, los cuales obtuvieron entre 2 ± 1 y 20 ± 8 , 1 a 27; 32 ± 15 y 27 ± 7 DFS / valva a partir de los 20 a 40 días de cultivo (Bulboa *et al.*, 2013; Arbaiza, 2016; Sáez y Macchiavello, 2018; Zapata-Rojas *et al.*, 2020).

Los resultados obtenidos indican que los procesos de limpieza del alga favorecen a que haya una mayor formación de DFS, reflejo de lo observado en la tabla 2 y la figura 4; esto se puede deber a que con la limpieza previa de las algas durante las etapas iniciales de cultivo se eliminaron sedimentos o algas epifitas adheridas a *C. chamissoi*, restringiendo así la competencia por el sustrato y nutrientes del medio (Vásquez y Vega, 2001). El presente resultado coincidió con los procedimientos previos (alga lavada) realizados por Arbaiza (2016) para *C. chamissoi*, determinándose que con la limpieza previa de las algas se puede obtener mayor cantidad DFS.

Por otro lado, en este estudio el tratamiento del agua por sí solo no presentó diferencias significativas; sin embargo, se pudo observar que si hubo interacción en los tratamientos del agua con el sustrato con ligeras diferencias. En investigaciones previas indican que algunas bacterias presentes en el medio están involucradas en la producción y degradación de fitohormonas y bioestimulantes del crecimiento y desarrollo celular del alga para la formación de DFS (Meusnier *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2011; Singh and Reddy, 2014; Alsufyani *et al.*, 2020). Sin embargo, se ha podido apreciar que con el uso de agua de mar clorada y sin clorar hay formación de DFS (Bulboa *et al.*, 2013; Arbaiza, 2016, 2023). Por lo que, para favorecer la formación de DFS probablemente no sea necesario usar agua filtrada o clorada porque este proceso implica que se incremente el tiempo entre clorar o declorar conllevando a retrasos logísticos y que se

DISCUSSION

Chondracanthus chamissoi exhibits diverse reproduction strategies, such as spore-based propagation and reattachment by fragmentation of the thallus, allowing it to remain in its natural environment throughout the year (Acleto, 1986; Alveal, 2001; Vásquez and Vega, 2001; Riofrío, 2003; Fonck *et al.*, 2008). Not only does SAD formation allow for the anchoring of drifting fronds of *C. chamissoi*, but it also plays an important role in the ability to propagate to new areas in the face of stressful environmental conditions for red algae cultivation (Pacheco-Ruiz *et al.*, 2005; Sáez *et al.*, 2008). In this study, all treatments formed SADs (1 - 21 SADs / shell) after 38 days of cultivation. These data are similar to those obtained by other researchers, who reported between 2 ± 1 and 20 ± 8 ; 1 and 27; and 32 ± 15 and 27 ± 7 SADs / shell over 20 - 40 days of cultivation (Bulboa *et al.*, 2013; Arbaiza, 2016; Sáez and Macchiavello, 2018; Zapata-Rojas *et al.*, 2020).

The results obtained indicate that algae cleaning process favor a greater SAD formation, as shown in Table 2 and Figure 4. This may be due to the fact that, with prior algae cleaning at the initial stages of cultivation, the sediments or epiphyte algae attached to *C. chamissoi* were eliminated, restricting competition for substrate and nutrients in the medium (Vásquez and Vega, 2001). These results agree with the previous procedures (washed algae) performed by Arbaiza (2016) for *C. chamissoi*. It can be stated that a greater amount of SADs can be obtained via prior algae cleaning.

On the other hand, in this study, the water treatment alone exhibited no significant differences. However, it could be observed that there was indeed interaction between water treatments and substrates, with slight differences. Previous research indicates that some bacteria present in the medium are involved in the production and degradation of algae phytohormones and biostimulants of cell growth and development for the formation of SADs (Meusnier *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2011; Singh and Reddy, 2014; Alsufyani *et al.*, 2020). Nevertheless, it has been observed that the use of chlorinated and unchlorinated seawater entails SAD formation (Bulboa *et al.*, 2013; Arbaiza, 2016, 2023). Therefore, in order to favor SAD formation, it may be unnecessary to use filtrated or chlorinated water, since this process implies extended times for chlorination or dechlorination, leading to logistic delays and the elimination of bacteria that could favor growth or SAD formation.

elimine la presencia de bacterias que podrían favorecer el crecimiento o formación de DFS.

Asimismo, el tratamiento del sustrato (biologizado y sin biologizar) presentó una interacción con el tratamiento del alga; sin embargo, no fue significativo en la formación de DFS a pesar de que estudios realizados previamente mencionan que lavar y desinfectar el sustrato con hipoclorito de sodio permite la eliminación de los microorganismos adheridos los cuales pueden afectar la formación de DFS (Macchiavello *et al.*, 2012; Zapata-Rojas *et al.*, 2020). No obstante, investigaciones contrastan lo señalado anteriormente dando a entender que la presencia de biofilm (bacterias y mucilago) pueden aumentar la energía superficial del sustrato, por ende, favorecen el asentamiento de las macroalgas (Lobban y Harrison, 1990; Hurd *et al.*, 2014). Sin embargo, en este estudio se pudo apreciar la formación de DFS con sustrato biologizado y sin biologizar.

La formación de DFS en la presente investigación se observó en casi todos los tratamientos con agua de mar clorada, sin clorar, sustrato biologizado, sin biologizar, alga lavada, alga sin lavar y también se apreció un aumento de biomasa en algunos tratamientos. Sin embargo, a pesar de tener el cultivo en condiciones controladas se pudo apreciar la presencia de epífitos y diatomeas, lo que pudo alterar la formación de DFS y ocasionar la despigmentación o necrosamiento de las algas. Estos microorganismos causan efectos en el cultivo, entre los que se pueden resaltar la competencia por la luz y por nutrientes del medio, densidad y/o peso sobre el alga hospedadora generando un desprendimiento del sustrato (Fletcher, 1995; Bulboa, 2006). En este estudio, la presencia de epífitos persistió en las algas a pesar de ser lavadas, esto probablemente se deba a que se desarrollaron en el agua de mar sin tratar o que durante la etapa experimental no se añadió GeO_2 y penicilina potásica, que, según Arbaiza (2016), son aditivos que ayudan a controlar la presencia de diatomeas y cianobacterias presentes en el medio de cultivo, por lo que recomienda realizar una limpieza rigurosa y que el cultivo esté provisto de un sistema de flujo continuo. Este sistema con flujo de agua continuo permitirá la captación de nutrientes del medio marino, como lo sugieren Bulboa *et al.* (2013).

CONCLUSIONES

Este estudio permite tener una idea de los procesos en etapas iniciales que requiere *C. chamissoi* para su cultivo por propagación vegetativa. En este caso, se muestra que el lavado previo de la macroalga puede favorecer una mayor

Likewise, the substrate treatment (biologized and non-biologized) exhibited interaction with algae treatments, but it was not significant in the formation of SADs, even though previous studies state that washing and disinfecting the substrate with sodium hypochlorite allows eliminating attached microorganisms that can affect the process (Macchiavello *et al.*, 2012; Zapata-Rojas *et al.*, 2020). Nevertheless, some studies refute the above, implying that the presence of biofilms (bacteria and mucilage) may increase the surface energy of the substrate, thus favoring the settling of seaweeds (Lobban and Harrison, 1990; Hurd *et al.*, 2014). This study, however, showed the formation of SADs with biologized and non-biologized substrates.

In this research, SAD formation was observed in almost all treatments with chlorinated and unchlorinated water, biologized and non-biologized substrates, and washed and unwashed algae. An increase in biomass was also observed in some treatments. However, despite the controlled conditions of the culture, the presence of epiphytes and diatoms could be observed, which may have altered the formation of SADs and caused the depigmentation or necrosis of the algae. These microorganisms have effects on the culture, notably through competition for light and nutrients in the medium and by increasing density and/or weight on the host algae, leading to detachment from the substrate (Fletcher, 1995; Bulboa, 2006). In this study, the presence of epiphytes persisted in the algae despite being washed, which is probably due to the fact that they developed in untreated seawater or that, during the experimentation phase, no GeO_2 or penicillin was added. According to Arbaiza (2016), these additives help to control the presence of diatoms and cyanobacteria, which is why it is recommended that a rigorous cleaning is carried out and that the culture is provided with a continuous flow system. A continuous water flow system enables the capture of nutrients in the marine medium, as suggested by Balboa *et al.* (2013).

CONCLUSIONS

This study provides an idea of the initial processes required by *C. chamissoi* for cultivation by vegetative propagation. In this case, it is shown that the prior washing of seaweeds may favor a greater production of SADs in short periods of time. However, in the interaction of variables, it could be observed that using chlorinated and unchlorinated water and biologized and non-biologized substrate also

producción de DFS en un corto periodo de tiempo. Sin embargo, se ha podido observar con la interacción de variables que, usar agua clorada, sin clorar, sustrato biologizado y sin biologizar también permite la formación de DFS. Se sugiere que, además de tener un ambiente controlado se debe analizar o añadir aditivos para evitar el crecimiento de diatomeas u otros microorganismos.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al proyecto denominado: “Implementación de un cultivo comercial piloto de *Chondracanthus chamissoi* por propagación vegetativa en la Bahía de Paracas” el cual fue financiado por el PNIPA (Contrato N°136-2018-PNIPA-Subproyectos) y la Universidad Científica del Sur (UCSUR N° 061-2022-PRO99). Asimismo, a la Cooperativa de Pescadores Artesanales Algas Marinas (Cotrapalmar) por su apoyo en la colecta de las macroalgas.

allows for the formation of SADs. It is suggested that, in addition to having a controlled environment, additives could be used to prevent the growth of diatoms or other microorganisms.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the project titled “Implementación de un cultivo comercial piloto de *Chondracanthus chamissoi* por propagación vegetativa en la Bahía de Paracas”, which was funded by the PNIPA (Contract N°136-2018-PNIPA-Subproyectos) and Universidad Científica del Sur (UCSUR N° 061-2022-PRO99). In addition, we would like to thank Cooperativa de Pescadores Artesanales Algas Marinas (Cotrapalmar) for their support in seaweed collection.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Acleto, C. 1986. Algunos aspectos biológicos de *Gigatina chamissoi* (C. Ag.) J. Agardh (Rhodophyta, Gigartinales). Rev. Cienc. 74 (1): 38-47
- Alsufyani, T., G. Califano, M. Deicke, J. Grueneberg, A. Weiss, A. Engelen, M. Kwantes, J. Frieder, J. Ulrich and T. Wichard. 2020. Macroalgal–bacterial interactions: identification and role of thallusin in morphogenesis of the seaweed *Ulva* (Chlorophyta). J. Exp. Bot. 71 (11) :3340–3349. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa066>
- Alveal, K. 2001. Estrategias reproductivas de Rhodophyta y sus nexos con biodiversidad: 367-388. En Alveal, K y T Antezana (Eds). Sustentabilidad de la biodiversidad. Univ. Concepción, Chile.
- Arbaiza, S. 2016. Viabilidad reproductiva para el cultivo de *Chondracanthus chamissoi* proveniente de tres poblaciones del litoral peruano. Tesis M. Sc Aquac., Univ. Nacional Agraria La Molina, Perú. 114 p. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/2772>
- Arbaiza, S., P. Gil-Kodaka., N. Arakaki y K. Alveal. 2019. Primeros estadios de cultivo a partir de carpóporas de *Chondracanthus chamissoi* de tres localidades de la costa peruana. Rev. Biol. Mar. Oceanogr., 54 (2): 198-207. <https://doi.org/10.22370/rbmo.2019.54.2.1901>
- Arbaiza, S., J. Ávila-Peltroche, M. Castañeda-Franco, A. Mires-Reyes, O. Advíncula and P. Baltazar. 2023. Vegetative propagation of the commercial red seaweed *Chondracanthus chamissoi* in Peru by secondary attachment disc during indoor cultivation. Plants, 12(10): 1940. <https://doi.org/10.3390/plants12101940>
- Ávila-Peltroche, J. and J. Padilla-Vallejos. 2020. The seaweed resources of Peru. Bot. Mar. 63(4): 381-394. <https://doi.org/10.1515/bot-2020-0026>
- Basaure, H., J. Macchiavello, C. Sepúlveda, F. Sáez, D. Yáñez, L. Vega and C Marín. 2021. Sea bottom culture of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta: Gigartinales) by vegetative propagation at Puerto Aldea, Tongoy Bay (northern Chile). Aquac. Res. 52: 2025-2035. <https://doi.org/10.1111/are.15051>
- Bulboa, C. 2006. Bases bio-tecnológicas para o cultivo de *Chondracanthus chamissoi*, uma alga vermelha de importância econômica da costa chilena. Tese Doutor. Univ. São Paulo. 131 p.
- Bulboa, C. and J. Macchiavello. 2006. Cultivation of cystocarpic, tetrasporic and vegetative fronds of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) on ropes at two localities in northern Chile. Invest. Mar., 34 (1): 109–112. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-71782006000100010>
- Bulboa, C., K. Véliz, F. Sáez, C. Sepúlveda, L. Vega and J. Macchiavello. 2013. A new method for cultivation of the carragenophyte and edible red seaweed *Chondracanthus chamissoi* based on secondary attachment disc: Development in outdoor tanks. Aquaculture. 410-411: 86-94. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.018>
- Calderón, M., M. Ramírez y D. Bustamante. 2010. Notas sobre tres especies de Gigartineae (Rhodophyta) del litoral peruano. Rev. Per. Biol., 17(1): 115- 121.
- Castañeda, M., S. Arbaiza, F. Diaz, Y. Castillo, P. Baltazar y O. Advíncula. 2018. Evaluación del fotoperiodo en el asentamiento de tetraesporas de *Chondracanthus chamissoi* sobre cuerdas de polipropileno en condiciones semi-controladas de laboratorio. An. Cient., 79 (2): 459 – 465. <https://doi.org/10.21704/ac.v79i2.1256>



- Colque, L. 2017. Evaluación del crecimiento de cultivo vegetativo de *Chondracanthus chamissoi*, utilizando fertilizante comercial Bayfolan y medio Guillard f/2, en condiciones de laboratorio en el Centro de Acuicultura de Morro Sama del Fondepes. Tesis Ing. Pesq. Univ. Nal. Jorge Basadre Grohmann, Perú. 124 p.
- Espi, A., D. Robledo and L. Hayashi. 2019. Development of seaweed cultivation in Latin America: Current trends and prospects. *Phycologia*, 58(5): 462–471. <https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1640996>
- Fletcher, R. 1995. Epiphytism and fouling in *Gracilaria* cultivation: an overview. *J. Appl. Phycol.*, 7 (3): 325–333. <https://doi.org/10.1007/BF00004006>
- Flores, D., J. Zavala, S. Donayre, A. Guardia y H. Sarmiento. 2015. Evaluación poblacional de *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh, 1820) en las bahías de Pisco y Paracas, otoño 2010. *Inf. Inst. Mar. Perú*, 42(4): 504–509. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/2998>
- Fonck, E., R. Martínez, J. Vásquez and C. Bulboa. 2008. Factors that affect the re-attachment of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) thalli. *J. Appl. Phycol.*, 20 (3): 311–314. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9251-y>
- Hayakawa, Y., K. Kawata, K. Machida, S. Yamano, S. Akita and D Fujita. 2017. Phenology of *Chondracanthus tenellus* (Rhodophyta) in the central Pacific coast of Honshu, Japan. *J. Appl. Phycol.*, 29 (5): 2547–2556. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1110-x>
- Hurd, C.L., P. Harrison, K. Bischof and C. Lobban. 2014. Seaweed ecology and physiology. 2nd ed. Cambridge Univ. Press. <https://doi:10.1017/CBO9781139192637>
- Icochea, E. 2008. Bases biológicas para el manejo del recurso *Chondracanthus chamissoi* en el litoral marino de Huanchaco, Departamento La Libertad, Perú. Tesis Maest., Univ. Nal. Trujillo, Perú. 50 p.
- Lobban, R. and P. Harrison. 1994. Seaweed ecology and physiology. Cambridge.
- Macchiavello, J., C. Bulboa and M. Edding. 2003. Vegetative propagation and spore-based recruitment in the carrageenophyte *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales, Rhodophyta) in northern Chile. *Phycol. Res.*, 51(1): 45–50. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1835.2003.00292.x>
- Macchiavello, J., C. Bulboa, C. Sepúlveda, K. Véliz, F. Sáez, L. Vega y R. Véliz. 2012. Manual de cultivo de *Chondracanthus chamissoi* (Chicorea de mar). Proyecto Huam Fondef. Univ. Católica Norte. Chile. 45 p.
- Macchiavello, J., C. Sepúlveda, H. Basaure, F. Sáez, D. Yáñez, C. Marín and L. Vega. 2017. Suspended culture of *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta: Gigartinales) in Caleta Hornos (northern Chile) via vegetative propagation with secondary attachment discs. *J. Appl. Phycol.*, 30 (2): 1149–1155. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1307-z>
- Meusnier, I., J.L. Olsen, W.T. Stam, C. Destombe and M. Valero. 2001. Phylogenetic analyses of *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) and of its associated bacterial microflora provide clues to the origin of the Mediterranean introduction. *Mol. Ecol.*, 10: 931–946. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2001.01245.x>
- Murray, A., E. Kumpel, R. Peletz, R. Khush and D. Lantagne. 2018. The effect of sodium thiosulfate dechlorination on fecal indicator bacteria enumeration: laboratory and field data. *J. Water Health*, 16(1): 70–77. <https://doi.org/10.2166/wh.2017.077>
- Otaíza, R. y J. Cáceres. 2015. Manual de una técnica para el repoblamiento de chicoria de mar, *Chondracanthus chamissoi* (C. Agardh) Kützinger (Rhodophyta, Gigartinales), en praderas naturales, Región del Biobío. Proyecto Fondef-Huam AQ1210004. Chile. 40 p.
- Oyarzo, S., M. Ávila, P. Alvear, J. Remonsellez., L. Contreras-Porcía and C. Bulboa. 2021. Secondary attachment disc of edible seaweed *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales): Establishment of permanent thalli stock. *Aquaculture*, 530: 735954. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735954>
- Pacheco-Ruiz, I., J. Zertuche-González and J. Espinoza-Ávalos. 2005. The role of secondary attachment discs in the survival of *Chondracanthus squarrosus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia*, 44 (6): 629–631. [https://doi.org/10.2216/0031-8884\(2005\)44\[629:TROSAD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2216/0031-8884(2005)44[629:TROSAD]2.0.CO;2)
- Pariona, E. y P. Gil-Kodaka. 2011. Colonización de *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) sobre sustratos calcáreos en Playa Mendieta, Reserva Nacional de Paracas. *An. Cient.*, 72 (1): 19–26. <https://doi.org/10.21704/ac.v72i1.854>
- Produce. 2019. Anuario estadístico pesquero y acuícola. Perú. 200 p. <https://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/en/shortcode/oe-documentos-publicaciones/publicaciones-anuales/item/949-anuario-estadistico-pesquero-y-acuicola-2019> 26/01/23
- Produce. 2021. Anuario estadístico pesquero y acuícola. Perú. 189 p. <https://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/en/shortcode/oe-documentos-publicaciones/publicaciones-anuales/item/1080-anuario-estadistico-pesquero-y-acuicola-2021> 26/01/23
- Ramírez, M.E. y B. Santelices. 1991. Catálogo de las algas marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico Sudamericano. *Monogr. Biol. Pont. Univ. Cat. Chile*. 437 p.
- Riofrío, O. 2003. Efecto de la variabilidad térmica sobre la biología vegetativa y reproductiva de *Chondracanthus chamissoi* (Agardh) Kützinger (Rhodophyta) en la bahía de Ancón, Perú. Tesis Biol. Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Perú. 41 p.
- Sáez, F and J. Macchiavello. 2018. Secondary attachment discs: a new alternative for restoring populations of *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales, Rhodophyta). *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 46 (1): 140–146. <http://dx.doi.org/10.3856/vol46-issue1-fulltext-14>
- Sáez, F., J. Macchiavello, E. Fonck and C. Bulboa. 2008. The role of the secondary attachment disc in the vegetative propagation of *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinales; Rhodophyta). *Aquat. Bot.*, 89 (1): 63–65. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2008.01.004>

- Singh, R.P. and C.R.K. Reddy. 2014. Seaweed–microbial interactions: key functions of seaweed-associated bacteria. FEMS Microbiol. Ecol., 88: 213-230. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12297>
- Singh, A., P.S. Nigam and J.D. Murphy. 2011. Renewable fuels from algae: an answer to debatable land based fuels. Bioresour. Technol., 102 (1): 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.032>
- Suárez, S. 2019. Filogeografía del alga *Chondracanthus chamissoi* (Gigartinaceae, Rhodophyta) en la costa peruana usando marcadores moleculares. Tesis Ing. Pesq., Univ. Nal. Agraria La Molina, Perú. 77 p.
- The R Foundation for Statistical Computing. Platform: x86_64-w64-mingw32/x64 (64 bits).
- Vásquez, J. and J. Vega. 2001. *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales) in northern Chile: ecological aspects for management of wild population. J. Appl. Phycol., 13 (3): 267-277. <https://doi.org/10.1023/A:1011152922832>
- Zapata-Rojas, J., A. Gonzales-Vargas y S. Zevallos-Feria. 2020. Estudio comparativo para propagación vegetativa de *Chondracanthus chamissoi*, Yuyo, sobre tres tipos de sustrato en ambiente controlado y su viabilidad en la región Moquegua. Enf. UTE. 11 (4): 37-47. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v11n4.642>

RECIBIDO / RECEIVED: 03/02/2023

ACEPTADO / ACCEPTED: 29/01/2024