

ARTÍCULO / ARTICLE

Evaluación del potencial reproductivo de *Gracilariopsis lemaneiformis* (Gracilariales: Rhodophyta) en San Andrés, Pisco-Perú

Evaluation of the reproductive potential of *Gracilariopsis lemaneiformis* (Gracilariales: Rhodophyta) in San Andres, Pisco-Peru

Sofía Cielo Chung-Velásquez ^{1,2*}

0000-0002-5046-6971
100022205@cientifica.edu.pe

Paul M. Baltazar-Guerrero ^{1,2*}

0000-0003-4071-4772
pbaltazar@cientifica.edu.pe

Max S. Castañeda-Franco ²

0000-0003-2470-6879
mcastanedaf@cientifica.edu.pe

Arturo J. Mires-Reyes ²

0000-0001-9550-8912
amires@cientifica.edu.pe

1. Carrera de Biología Marina, Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas, Universidad Científica del Sur, Lima 15067, Perú. 100022205@cientifica.edu.pe

2. Grupo de Investigación en Acuicultura Sostenible (GIAS); 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*; mcastanedaf@cientifica.edu.pe, amires@cientifica.edu.pe

* Autor de correspondencia/Corresponding Author:

Recibido / Received: 06/10/2024

Aceptado / Accepted: 08/04/2025

Citación / Citation: Chung-Velásquez, S.C.; Baltazar-Guerrero, P.M.; Castañeda-Franco, M.S. 2025. Mires-Reyes, A.J. Evaluación del potencial reproductivo de *Gracilariopsis lemaneiformis* (Gracilariales: Rhodophyta) en San Andrés, Pisco-Perú. Bol. Invest. Mar. Cost., 54(2): 53-69

RESUMEN

Gracilariopsis lemaneiformis (conocida en Perú como "pelillo") es una macroalga roja de importancia económica. El objetivo de este trabajo es evaluar el potencial reproductivo (PR) de individuos de la especie extraídos en la playa San Andrés, Pisco-Perú a través de la técnica de liberación de esporas; para ello se tomaron muestras de la especie en zonas alejadas de la orilla (A, B y C) y se evaluó la liberación de esporas en condiciones de laboratorio. Los resultados de este estudio indican que las condiciones de orilla serían propicias para la madurez de estructuras reproductivas y liberación de esporas en esta especie, condicionadas por los parámetros fisicoquímicos del agua, resaltando entre ellos temperatura y salinidad. Se contabilizó en promedio 274.91 ± 1.52 cistocarpos g^{-1} , $137 359.78 \pm 2546.17$ esporas g^{-1} , y un potencial reproductivo de $154 097.94$ esporas g^{-1} . Se propone llevar a cabo más investigación que pueda complementar este trabajo para proponer planes de manejo.

Palabras clave: Macroalga roja, reproducción, esporulación, acuicultura, cultivo.

ABSTRACT

Gracilariopsis lemaneiformis (known in Perú as "pelillo") is a red seaweed of economic importance recognized for providing a wide variety of services. The aim of this work is to evaluate the reproductive potential (RP) of individuals of the species extracted from Playa San Andrés, Pisco-Peru through the spore release technique; for this purpose, samples of the species were taken in areas far from the shore (A, B and C) and spore release was evaluated under laboratory conditions. The results of this study indicate that the shore conditions would be favorable for the maturity of reproductive structures and spore release in this species, conditioned by water physicochemical parameters, highlighting temperature and salinity among them. An average of 274.91 ± 1.52 cystocarps g^{-1} , $14 950.08 \pm 271.13$ spores g^{-1} , and a reproductive potential of $154,097.94$ spores g^{-1} were counted. Further research can complement this work in order to propose management plans.

Key words: Red seaweed, reproduction, sporulation, aquaculture, cultivation.

INTRODUCCIÓN

Gracilariopsis lemaneiformis (Bory) E. Y. Dawson, Acleto & Foldvik, perteneciente al orden Gracilariales, conocida como “pelillo” en Perú, es una macroalga roja que se distribuye de manera natural en la costa pacífica de América del Sur. Forma parches que se extienden desde Paita, Perú (5°05'21" S, 81°06'51" O), hasta Antofagasta, Chile (23°39'08" S, 70°23'43" O). Se encuentra principalmente en la zona intermareal y sublitoral superior en litoral arenoso (Arakaki *et al.*, 2015). Al igual que otras rodófitas, presenta reproducción asexual (vegetativa) y sexual (gametofitos y esporofitos), sobre los cuales influyen diversos factores ambientales (Jiang *et al.*, 2018) que determinan la liberación y asentamiento de esporas en el medio natural delimitando así el área geográfica de la especie (Yang *et al.*, 2006; Bulboa *et al.*, 2008; Jiang *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2022).

Las especies del orden Gracilariales son de importancia económica a nivel mundial, debido a la presencia de polisacáridos de agar de alta calidad; metabolitos (como ficoeritrina, hemaglutinina, entre otros). Por esta razón son utilizados en productos farmacéuticos, cosméticos, agrícolas y nutraceuticos (Kain y Destombe, 1995; Mazumder *et al.*, 2002; Marin y Peña, 2011; Meinita *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2017; Song *et al.*, 2021). La mayor parte de la bibliografía disponible sobre *G. lemaneiformis* proviene de países asiáticos, especialmente de China, donde es considerado un recurso de interés comercial global (Zhou *et al.*, 2016). Esta macroalga es altamente apreciada, cultivada y estudiada, sobre todo por su potencial uso en la biorremediación, generando una cantidad significativa de información científica sobre su cultivo (Ye *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; Pan *et al.*, 2022; Pang *et al.*, 2023). En Sudamérica, la mayor cantidad de información proviene de Chile y Perú, aunque en términos generales, ésta es escasa, dispersa y antigua, enfocada principalmente en describir su historia de vida, identificación taxonómica y cuantificación de la explotación de la macroalga (Santelices *et al.*, 1984; González *et al.*, 1996; Arakaki *et al.*, 2015).

En Perú, este recurso es extraído en grandes cantidades por pescadores artesanales directamente de poblaciones naturales, especialmente durante la temporada de primavera y verano, y vendida a empresas exportadoras (Castillo *et al.*, 1999; Arakaki *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2018). Esta actividad ha sido señalada como no sostenible y como causa de impacto negativo en el ecosistema (Avila-Peltroche y Padilla-Vallejos,

INTRODUCTION

Gracilariopsis lemaneiformis (Bory) E. Y. Dawson, Acleto & Foldvik, belonging to the order Gracilariales, known as “pelillo” in Peru, is a red seaweed that is naturally distributed along the Pacific coast of South America. It forms patches extending from Paita, Peru (5°05'21" S, 81°06'51" W), to Antofagasta, Chile (23°39'08" S, 70°23'43" W). It is found mainly in the intertidal and upper sublittoral zone on sandy shorelines (Arakaki *et al.*, 2015). Like other rhodophytes, it has asexual (vegetative) and sexual (gametophytes and sporophytes) reproduction, which is influenced by various environmental factors (Jiang *et al.*, 2018) that determine the release and settlement of spores in the natural environment, thus delimiting the geographical range of the species (Yang *et al.*, 2006; Bulboa *et al.*, 2008; Jiang *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2022).

Species of the order Gracilariales are of worldwide economic importance, due to the presence of high-quality agar polysaccharides; metabolites (such as phycoerythrin, hemagglutinin, among others). For this reason, they are used in pharmaceutical, cosmetic, agricultural and nutraceutical products (Kain y Destombe, 1995; Mazumder *et al.*, 2002; Marin and Peña, 2011; Meinita *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2017; Song *et al.*, 2021). Most of the available literature on *G. lemaneiformis* comes from Asian countries, especially from China, where it is considered a resource of global commercial interest (Zhou *et al.*, 2016). This seaweed is highly appreciated, cultivated and studied, especially for its potential use in bioremediation, generating a significant amount of scientific information on its cultivation (Ye *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; Pan *et al.*, 2022; Pang *et al.*, 2023). In South America, most information comes from Chile and Peru, although in general terms, this is scarce, scattered and old, mainly focused on describing its life history, taxonomic identification and quantification of the exploitation of the seaweed (Santelices *et al.*, 1984; González *et al.*, 1996; Arakaki *et al.*, 2015).

In Peru, this resource is extracted in large quantities by artisanal fishermen directly from natural populations, especially during the spring and summer season, and sold to exporting companies (Castillo *et al.*, 1999; Arakaki *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2018). This activity has been reported as unsustainable and as a cause of negative impact on the ecosystem (Avila-Peltroche and Padilla-Vallejos, 2020; Yang *et al.*, 2021). Despite this,

2020; Yang *et al.*, 2021). A pesar de ello, el interés por la especie sigue en aumento, y la demanda no puede ser cubierta a través de la extracción directa, por lo que es necesaria información científica que permita implementar biotécnicas de cultivo para *G. lemaneiformis* (Wei *et al.*, 2021).

En la acuicultura, *G. lemaneiformis* es reconocida como especie propicia para el cultivo por su alta tasa de crecimiento (6.6% d⁻¹), rápido incremento de biomasa (20 veces más en 45 días), morfología ramificada para pronta cobertura de sedimentos, adaptación a variedad de condiciones ambientales (Gerard, 1988) como turbulencias marinas, rango de salinidad (20-35‰), temperatura (12-23°C) y desecación. Además, se ha descrito como una especie reproductiva durante todo el año (González-Leija *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2013a, 2016; Zhang *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2021; Xiao *et al.*, 2022).

Actualmente, el método más común para el cultivo de la especie es a través del crecimiento de fragmentos vegetativos (reproducción asexual). Siendo una actividad exhaustiva y laboriosa, lo que hace que sea no óptima para producción a gran escala debido a su considerable demanda de tiempo, mano de obra, y un stock inicial elevado necesario para su implementación (Freitas *et al.*, 2021). Además, este método favorece una baja diversidad genética, haciéndola más propensa a enfermedades, fenómeno de creciente interés (Murúa *et al.*, 2024). Por otro lado, la alta demanda y su rápida comercialización a nivel mundial, no permite brindar el tiempo necesario a la especie para una recuperación óptima de las praderas naturales, lo que genera un impacto negativo en los ecosistemas locales (Cotas *et al.*, 2023).

Otro método utilizado para propagar especies de macroalgas es la técnica de liberación de esporas, también conocida como “esporocultivo”. Esta técnica presenta varias ventajas frente a la tradicional propagación vegetativa, dado que la liberación de esporas permite colonizar áreas de mayor tamaño con una menor cantidad de materia prima (esporas). También favorece la variabilidad genética, la cual brinda la oportunidad de mejorar o desarrollar características que sean de interés para los productores. Así mismo, permite proponer mejoras genéticas y crear nuevos bancos naturales (Romo, 1988; Ren *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2013b; Xiao *et al.*, 2022).

Esta técnica ha sido estudiada en especies del género *Gracilaria* para determinar si es viable para el cultivo (Umamaheswara,

interest in the species continues to grow, and the demand cannot be met through direct extraction, so scientific information is needed to implement biotechnical cultivation techniques for *G. lemaneiformis* (Wei *et al.*, 2021).

In aquaculture, *G. lemaneiformis* is recognized as a favorable species for culture because of its high growth rate (6.6% d⁻¹), fast biomass increase (20 times more in 45 days), branched morphology for prompt sediment cover, adaptation to a variety of environmental conditions (Gerard, 1988) such as marine turbulence, salinity range (20-35‰), temperature (12-23°C) and desiccation. In addition, it has been described as a year-round reproductive species (González-Leija *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2013a, 2016; Zhang *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2021; Xiao *et al.*, 2022).

Currently, the most common method for the cultivation of the species is through the growth of vegetative fragments (asexual reproduction). It is an exhaustive and laborious activity, which makes it not optimal for large-scale production due to its considerable demand for time, labor, and a high initial stock required for its implementation (Freitas *et al.*, 2021). In addition, this method favors low genetic diversity, making it more prone to diseases, a phenomenon of growing interest (Murúa *et al.*, 2024). On the other hand, the high demand and its rapid commercialization worldwide does not allow the species the necessary time for an optimal recovery of the natural beds, which generates a negative impact on local ecosystems (Cotas *et al.*, 2023).

Another method used to propagate seaweed species is the spore release technique, also known as “spore cultivation”. This technique has several advantages over traditional vegetative propagation, since the release of spores makes it possible to colonize larger areas with a smaller amount of raw material (spores). It also favors genetic variability, which provides the opportunity to improve or develop traits that are of interest to producers. It also makes it possible to propose genetic improvements and create new natural banks (Romo, 1988; Ren *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2013b; Xiao *et al.*, 2022).

This technique has been studied on species of the genus *Gracilaria* to determine if it is viable for cultivation (Umamaheswara, 1976; Umamaheswara and Subbarangaiah, 1981; Halling *et al.*, 2005). Alveal *et al.* (1997) cultivated *G. chilensis* from cystocarp

1976; Umamaheswara y Subbarangaiah, 1981; Halling *et al.*, 2005). Alveal *et al.* (1997) cultivaron *G. chilensis* a partir de individuos cistocárpicos para evaluar e incentivar el método de manejo de la especie a través de la técnica de liberación de esporas, destacando que a partir de 200 g del alga se podía obtener densidades de 400 esporas cm^{-2} , y concluyendo que estas cantidades son viables para el manejo de granjas comerciales en colaboración con cooperativas de pescadores. Glenn *et al.* (1996) aplicó el método con *Gracilaria parvispora*, que mantuvo liberando carposporas por 42 horas sobre cuerdas de nylon obteniendo densidades de 1810 esporas cm^{-2} , destacando que la cosecha que se obtuvo podía ser entregada a las comunidades costeras para su posterior siembra, mientras una pequeña parte podía ser usada para producir nuevas esporas para el manejo de futuras generaciones. Lideman *et al.* (2019) aplicó la técnica usando distintos medios de cultivo para obtener la mayor cantidad de carposporas posibles por día, obteniendo como máximo número de esporas liberadas por cistocarpo 2351 en el segundo día en medio SSW, concluyendo que el método podría aplicarse para promover la producción de semillas de la macroalga. Así, la técnica del “esporocultivo” ha sido estudiada en especies del género *Gracilaria*, pero ha sido poca difundida para el “pelillo” en Perú (Hayashi *et al.*, 2013).

El esporocultivo, junto con el cultivo vegetativo, representa una herramienta clave para optimizar la producción de *G. lemaneiformis* en Perú. Sin embargo, existe un vacío de información sobre el potencial reproductivo de las esporas de esta especie, lo que limita su aplicación. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar dicho potencial en individuos extraídos de la playa San Andrés, Pisco-Perú, donde se encuentra uno de los parches representativos de la especie en el país. A través de esta evaluación, se busca determinar si la técnica de liberación de esporas en esta región podría ofrecer resultados viables para el desarrollo de un plan de cultivo que garantice su disponibilidad de manera sostenible.

METODOLOGÍA

Recolección y procesamiento de las muestras

La colecta de individuos de *G. lemaneiformis* se llevó a cabo entre noviembre del 2021 y enero del 2022, en trabajo conjunto con pescadores de la Cooperativa de Trabajadores Pesqueros

individuos to evaluate and encourage the management method of the species through the spore release technique, highlighting that from 200 g of seaweed, densities of 400 spores cm^{-2} could be obtained, and concluding that these quantities are viable for the management of commercial farms in collaboration with fishermen's cooperatives. Glenn *et al.* (1996) applied the method with *Gracilaria parvispora*, which kept releasing carpospores for 42 hours on nylon ropes, obtaining densities of 1810 spores cm^{-2} , emphasizing that the harvest obtained could be given to coastal communities for subsequent planting, while a small part could be used to produce new spores for the management of future generations. Lideman *et al.* (2019) applied the technique using different culture media to obtain as many carpospores as possible per day, obtaining 2351 as the maximum number of spores released per cystocarps on the second day in SSW medium, concluding that the method could be applied to promote seed production of the seaweed. Thus, the “spore cultivation” technique has been studied in species of the genus *Gracilaria*, but has been little disseminated for “pelillo” in Peru (Hayashi *et al.*, 2013).

Spore cultivation, together with vegetative cultivation, represents a key tool to optimize the production of *G. lemaneiformis* in Peru. However, there is a lack of information on the reproductive potential of the spores of this species, which limits its application. Therefore, the objective of this study was to evaluate this potential in individuals extracted from San Andres beach, Pisco-Peru, where one of the representative patches of the species in the country is located. Through this evaluation, we seek to determine if the spore release technique in this region could offer viable results for the development of a cultivation plan that guarantees its availability in a sustainable manner.

METHODOLOGY

Sample collection and processing

The collection of individuals of *G. lemaneiformis* was carried out between November 2021 and January 2022, working together with fishermen from the Cooperativa de Trabajadores Pesqueros Artesanales Algas Marinas (COTRAPALMAR). Samples were randomly collected at 25 points on San Andrés beach, characterized as a shallow beach with an extended intertidal zone (13°42' 57.39" S, 76°13' 16.30" W) (Figure 1). The individuals

Artesanales Algas Marinas (Cotrapalmar). Se colectaron muestras de manera aleatoria en 25 puntos en playa San Andrés, caracterizada por ser poco profunda con una zona intermareal extendida ($13^{\circ}42'57.39''$ S, $76^{\circ}13'16.30''$ O) (Figura 1). Los individuos seleccionados fueron aquellos que preferentemente presentaron la fase cistocárpica, para delimitar el trabajo y los objetivos propuestos.

Los puntos de muestreo aleatorio (25) fueron enumerados y clasificados por su distancia a la orilla. De esta manera, obtuvimos: puntos cercanos a la orilla, 0 – 5 m “Zona A” (estación 1- 8), medianamente cercanos a la orilla, 5 – 20 m “Zona B” (estación 9 – 16), y alejados de la orilla, 20 – 50 m “Zona C” (estación 17- 25) (Figura 1).

selected were those that preferably presented the cystocarp phase, in order to delimit the work and the proposed objectives.

Random sampling points (25) were numbered and ranked by distance from shore. In this way, we obtained: points close to the shore, 0 - 5 m “Zone A” (station 1- 8), moderately close to the shore, 5 - 20 m “Zone B” (station 9 - 16), and far from the shore, 20 - 50 m “Zone C” (station 17- 25) (Figure 1).



Figura 1. Mapa de Playa San Andrés, Pisco, mostrando su ubicación en Perú, y los 25 puntos de muestreo de colecta de *Gracilariopsis lemaneiformis* divididos en 3 zonas: A, B y C.

Figure 1. Map of San Andres beach, Pisco, showing its location in Peru and the 25 sampling points for collecting *Gracilariopsis lemaneiformis* divided into 3 zones: A, B and C.

En cada punto donde se realizó el muestreo se tomaron parámetros fisicoquímicos de temperatura ($^{\circ}$ C), salinidad (UPS), pH, y oxígeno disuelto (O_2), con un equipo multiparámetro marca YSI modelo Professional PLUS (Yellow Springs, Ohio, EE. UU). Cada punto fue georreferenciado con un GPS marca GARMIN

At each sampling point, physicochemical parameters of temperature ($^{\circ}$ C), salinity (UPS), pH, and dissolved oxygen (O_2) were measured with a YSI Professional PLUS multiparameter equipment (Yellow Springs, Ohio, USA). Each point was georeferenced with a GARMIN GPS model MAP64S

modelo MAP64S (Georgetown, Islas Caimán).

Las muestras fueron colocadas en bolsas Ziploc y trasladadas al laboratorio de Investigación en Cultivos Marinos (LICMA) de la Universidad Científica del Sur, sede Pisco. Una vez en las instalaciones del LICMA, las muestras fueron separadas de otras macroalgas, lavadas primero con abundante agua destilada y luego con agua de mar filtrada para eliminar todo epifito y gránulos de arena presente en la macroalga. Finalmente se separaron las algas según la presencia o no de estructuras reproductivas (cistocarpos) (Figura 2A, 2B).

(Georgetown, Cayman Islands).

The samples were placed in Ziploc bags and transferred to the Laboratorio de Investigación en Cultivos Marinos (LICMA) of the Universidad Científica del Sur, Pisco. Once at the LICMA facilities, the samples were separated from other seaweeds, washed first with abundant distilled water and then with filtered seawater to remove any epiphytes and sand granules present in the seaweed. Finally, fronds were separated according to the presence or absence of reproductive structures (cystocarps) (Figure 2A, 2B).

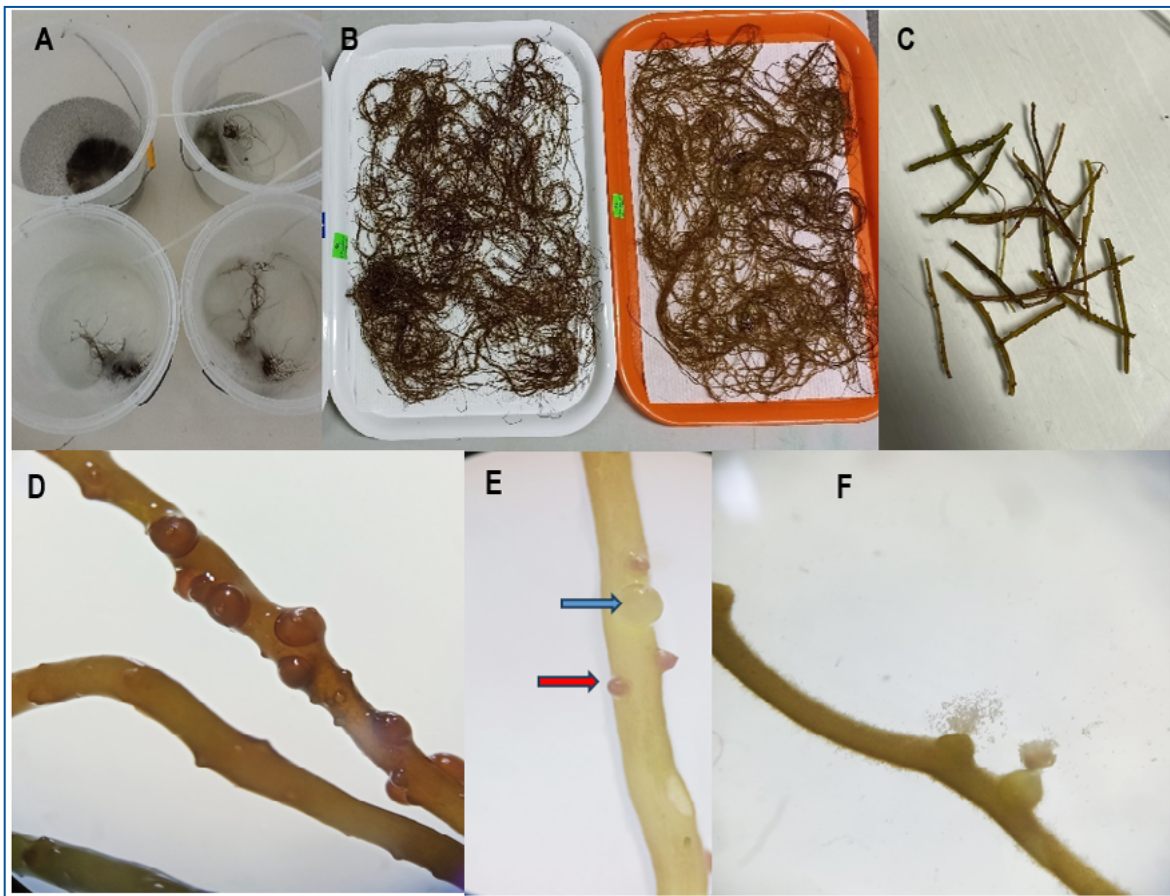


Figura 2. Procesos experimentales en *Gracilariopsis lemaneiformis*: (A) Baldes utilizados para el transporte de muestras. (B) Individuos con estructuras reproductivas, separados en bandejas para la limpieza de epífitos. (C) Trozos de 2 cm empleados para el control de peso y biomasa. (D) Observación de cistocarpos maduros bajo estereoscopio. (E) Cistocarpos inmaduros (flecha roja) y en maduración (flecha azul) vistos al estereoscopio. (F) Liberación de esporas, vista al estereoscopio.

Determinación del potencial reproductivo

Las frondas cistocárpicas obtenidas de cada punto muestreado fueron uniformizadas segmentándose en pequeños trozos (2 cm), y pesadas en una balanza analítica AE-Adam SAB 125I (Adam Equipment Ltd, Kingston, Reino Unido) para luego proceder a

Figure 2. Experimental processes in *Gracilariopsis lemaneiformis*: (A) Buckets used for sample transportation. (B) Individuals with reproductive structures, separated in trays for epiphyte cleaning. (C) 2 cm pieces used for weight and biomass control. (D) Observation of mature cystocarps under stereoscope. (E) Immature (red arrow) and maturing (blue arrow) cystocarps viewed under the stereoscope. (F) Spore release, seen under the stereoscope.

Determination of reproductive potential

The cystocarp fronds obtained from each sampled point were uniformized by segmenting them into small pieces (2 cm), and weighed on an AE-Adam SAB 125I analytical scale (Adam Equipment Ltd, Kingston, United Kingdom) to then proceed to

agruparlas hasta alcanzar una biomasa de 0.10 g, que serían consideradas como réplicas (Figura 2C, 2D); se obtuvo nueve réplicas por cada una de las 25 zonas, analizando en total 225 muestras.

Posteriormente, se procedió a someterlas a “estrés por desecación”, manteniendo los ejemplares trozados expuestos al aire y a temperatura ambiente en condiciones de laboratorio durante 3h, a fin de inducir la liberación de esporas (Infante y Candia, 1988; Wang *et al.*, 2010). Al finalizar el tiempo de desecación, cada una de las réplicas se colocaron en viales con 5 mL de agua de mar durante tres horas para rehidratarlas. Pasado dicho tiempo, se procedió a fijar las esporas liberadas en los viales, aplicando tres gotas de Lugol en cada vial.

Finalmente, se contabilizó el número de cistocarpos, y las esporas obtenidas por mililitro (esporas mL⁻¹). El conteo se llevó a cabo empleando una cámara de recuento Sedgewick Rafter según McAlice (1971), así mismo se determinó el potencial reproductivo según Arbaiza (2016):

group them until reaching a biomass of 0.10 g, which would be considered as replicates (Figure 2C, 2D); 9 replicates were obtained for each of the 25 zones, analyzing a total of 225 samples.

Subsequently, they were subjected to “desiccation stress”, keeping the cut specimens exposed to air and room temperature under laboratory conditions for 3h, in order to induce the spore release (Infante and Candia, 1988; Wang *et al.*, 2010). At the end of the drying time, each of the replicates were placed in vials with 5 mL of seawater for three hours to rehydrate them. After this time, the released spores were fixated in the vials by applying 3 drops of Lugol's solution to each vial.

Finally, the number of cystocarps and spores obtained per milliliter (spores mL⁻¹) were counted. Counting was carried out using a Sedgewick Rafter counting chamber according to McAlice (1971), and reproductive potential was determined according to Arbaiza (2016):

$\frac{\text{Esporas}}{\text{mL}} (n) = \frac{\text{Esporas contadas} \times 1000}{\text{Celdas}}$	$\frac{\text{Spores}}{\text{mL}} (n) = \frac{\text{Counted spores} \times 1000}{\text{Cells}}$
$\frac{\text{Esporas}}{\text{Litro}} (N) = \frac{n \times v \times 1000}{V}$	$\frac{\text{Spores}}{\text{Liter}} (N) = \frac{n \times v \times 1000}{V}$
$\text{Potencial Reproductivo (PR)} = \frac{\# \text{cistocarpos}}{g} \times \left(\frac{\text{Esp}}{\text{cistocarpos}} \right) \times W_i$	$\text{Reproductive potential (RP)} = \frac{\# \text{cystocarps}}{g} \times \left(\frac{\text{Spores}}{\text{cystocarps}} \right) \times W_i$

Donde:

n = número de media de esporas en 1mL de muestra de agua

v = volumen de concentrado de muestra de agua (mL)

V = volumen de agua total (litros)

Wi = Peso de individuo algal (g)

Where:

n = average number of spores in 1mL of water sample

v = volume of water sample concentrate (mL)

V = total water volume (liters)

Wi = Weight of algal individual (g)

Identificación de estado de madurez de estructuras reproductivas

Paralelamente a la obtención de esporas, se realizó la descripción de los cistocarpos empleando un microscopio Leica DM500 y estereoscopio marca Leica Modelo S Apo Stereozoom (Leica, Wetzlar, Alemania), analizando el tamaño para identificar y describir los estados de madurez (maduro, inmaduro, en maduración) de estos, y el número de cistocarpos respecto a una biomasa determinada (Marín-Salgado and Peña-Salamanca, 2011). Se clasificó los cistocarpos en maduración a aquellos que presentaron una forma circular globosa, como

Identification of the maturity stage of reproductive structures

Parallel to the spore collection, the cystocarps were described using a Leica DM500 microscope and a Leica Model S Apo Stereozoom (Leica, Wetzlar, Germany), analyzing their size to identify and describe the stages of maturity (mature, immature, maturing) and the number of cystocarps with respect to a given biomass (Marín-Salgado and Peña-Salamanca, 2011).

The cystocarps were classified as maturing to those that presented a globular circular shape, as mature to those with a well-defined globular shape and turgid, prone to release spores at

maduros a aquellos con forma globosa bien definida y turgentes, propensos a liberar las esporas en el momento apropiado, y a los cistocarpos inmaduros a aquellos que presentaron forma circular irregular de tamaño pequeño a forma de protuberancias sobre la macroalga (Figura 4).

Análisis de datos estadístico

Para evaluar el potencial reproductivo (PR), número de cistocarpos g^{-1} y número de esporas por cistocarpo de *G. lemaneiformis* según la zona de muestreo, se ajustó un modelo lineal generalizado con una distribución de error binomial negativa (GLM.nb). Esta aproximación permitió manejar la sobredispersión presente en los datos y proporcionar estimaciones más robustas de la relación entre los valores relacionados con el potencial reproductivo del alga y las características de cada zona de muestreo (Zona A, B y C).

Para analizar la influencia de los parámetros fisicoquímicos en el (PR), número de cistocarpos g^{-1} y número de esporas por cistocarpo de *G. lemaneiformis*, se emplearon Modelos Lineales Generalizados Mixtos (GLMM) con una distribución de error binomial. En estos modelos, la temperatura, la salinidad, el pH y el oxígeno disuelto se incluyeron como efectos fijos, mientras que la zona de muestreo se incorporó como un efecto aleatorio para considerar la variabilidad espacial.

Finalmente, para evaluar si las proporciones de la madurez de cistocarpos de *G. lemaneiformis* difieren entre las tres zonas de muestreo se realizó una prueba de Chi-cuadrado. En los análisis de los valores reproductivos (número de cistocarpos g^{-1} y número de esporas por cistocarpo) se utilizó la prueba de Diferencia Honestamente Significativa de Tukey (HSD) para realizar comparaciones múltiples y determinar diferencias significativas según la zona de muestreo. El análisis de la información se llevó a cabo con el uso del programa RStudio v4.3.2 para los datos mediante la función `glm.nb()` del paquete MASS, y la función `glmer()` del paquete lme4. Los gráficos presentes en este estudio se realizaron empleando el programa de Excel 2016.

the appropriate time, and immature cystocarps to those that presented an irregular circular shape of small size to protrusions on the macroalgae (Figure 4).

Statistical data analysis

To evaluate the reproductive potential (RP), number of cystocarps g^{-1} and number of spores per cystocarp of *G. lemaneiformis* according to sampling area, a generalized linear model with a negative binomial error distribution (GLM.nb) was fitted. This approach allowed to handle the overdispersion present in the data and to provide more robust estimates of the relationship between the values related to the reproductive potential of the algae and the characteristics of each sampling zone (Zone A, Zone B and Zone C).

To analyze the influence of physicochemical parameters on the (PR), number of cystocarps g^{-1} and number of spores per cystocarp of *G. lemaneiformis*, Generalized Linear Mixed Models (GLMM) with a binomial error distribution were used. In these models, temperature, salinity, pH and dissolved oxygen were included as fixed effects, while sampling area was incorporated as a random effect to account for spatial variability.

Finally, to assess whether the maturity proportions of cystocarps of *G. lemaneiformis* differed among the three sampling areas, a Chi-square test was performed. In the analysis of reproductive values (number of cystocarps g^{-1} and number of spores per cystocarp), Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test was used to perform multiple comparisons and determine significant differences according to the sampling area. Data analysis was carried out using the RStudio v4.3.2 software for data using the `glm.nb()` function of the MASS package and the `glmer()` function of the lme4 package. The graphs presented in this study were made using Excel 2016.

RESULTADOS

Potencial Reproductivo

El análisis mediante un modelo lineal generalizado con distribución binomial negativa (GLM.nb) mostró diferencias significativas en el potencial reproductivo (PR) de *G. lemaneiformis* entre las tres zonas de muestreo ($\chi^2 = 1422.35$, $gl = 2$, $p < 0.001$). La Zona A presentó el mayor PR ($216,336 \pm 4,655$ esporas g^{-1}), por lo que se utilizó como referencia para las comparaciones. En la Zona B, el PR disminuyó significativamente en comparación con la Zona A ($181,205 \pm 3,855$ esporas g^{-1} ; $p = 0.002$), mientras que en la Zona C se registró el valor más bajo ($64,753 \pm 12,655$ esporas g^{-1} ; $p < 0.001$). La evaluación del ajuste del modelo indicó que la distribución binomial negativa fue más adecuada que un modelo binomial estándar (AIC = 230.2 vs. 250.4, $\Delta AIC = -20.2$), lo que confirma la presencia de sobredispersión en los datos.

El análisis reveló diferencias significativas en el número de cistocarpos por gramo (g^{-1}) de *G. lemaneiformis* entre las tres zonas de muestreo ($\chi^2 = 122.8$, $gl = 2$, $p < 0.001$). En promedio, la Zona A presentó la mayor cantidad de cistocarpos (391.94 ± 6.45 g^{-1}), seguida por la Zona B, donde se observó una reducción moderada (279.44 ± 4.28 g^{-1}), y la Zona C, que registró el menor número (153.33 ± 3.15 g^{-1}) (Figura 3A).

Asimismo, el número de esporas por cistocarpo mostró variaciones significativas entre las zonas de estudio ($\chi^2 = 518.16$, $gl = 2$, $p < 0.001$). La B presentó el mayor promedio (648.4 ± 116.02), seguida por la A (552.0 ± 98.35), mientras que la Zona C registró la menor cantidad de esporas por cistocarpo (422.3 ± 147) (Figura 3B).

RESULTS

Reproductive Potential

Analysis using a generalized linear model with negative binomial distribution (GLM.nb) showed significant differences in the reproductive potential (RP) of *Gracilariopsis lemaneiformis* among the three sampling areas ($\chi^2 = 1422.35$, $gl = 2$, $p < 0.001$). Zone A presented the highest PR ($216,336 \pm 4,655$ spores g^{-1}), so it was used as a reference for comparisons. In Zone B, the PR decreased significantly compared to Zone A ($181,205 \pm 3,855$ spores g^{-1} ; $p = 0.002$), while the lowest value was recorded in Zone C ($64,753 \pm 12,655$ spores g^{-1} ; $p < 0.001$). Evaluation of the model fit indicated that the negative binomial distribution was more appropriate than a standard binomial model (AIC = 230.2 vs. 250.4, $\Delta AIC = -20.2$), confirming the presence of overdispersion in the data.

The analysis revealed significant differences in the number of cystocarps per gram (g^{-1}) of *G. lemaneiformis* among the three sampling areas ($\chi^2 = 122.8$, $gl = 2$, $p < 0.001$). On average, Zone A presented the highest number of cystocarps (391.94 ± 6.45 g^{-1}), followed by Zone B, where a moderate reduction was observed (279.44 ± 4.28 g^{-1}), and Zone C, which registered the lowest number (153.33 ± 3.15 g^{-1}) (Figure 3A).

Likewise, the number of spores per cystocarp showed significant variations between study areas ($\chi^2 = 518.16$, $gl = 2$, $p < 0.001$). Zone B presented the highest average (648.4 ± 116.02), followed by Zone A (552.0 ± 98.35), while Zone C recorded the lowest number of spores per cystocarp (422.3 ± 147) (Figure 3B).

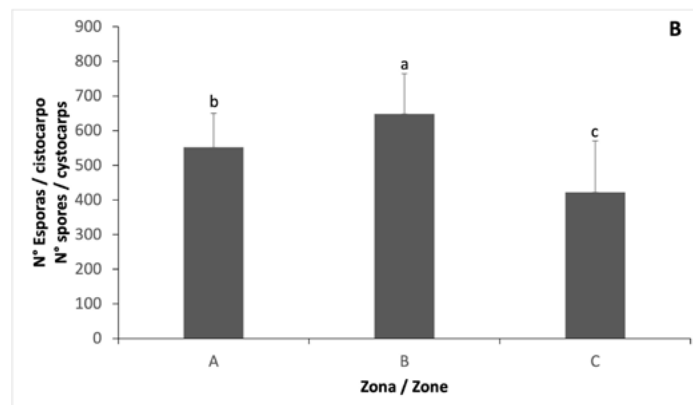


Figura 3. Valores reproductivos de *G. lemaneiformis* encontrados por zona. A: Número de cistocarpos por gramo. B: Número de esporas por cistocarpo. Diferentes letras indican diferencias significativas según Test HSD de Tukey ($p < 0.001$).

Figure 3. Reproductive values of *G. lemaneiformis* found by zone A: Number of cystocarps per gram. B: Number of spores per cystocarp. Different letters indicate significant differences according to Tukey's HSD test ($p < 0.001$).

Análisis de parámetros fisicoquímicos

El análisis mediante un modelo lineal mixto generalizado (GLMM), considerando la zona de muestreo como efecto aleatorio, mostró que la temperatura y la salinidad tuvieron un impacto significativo en el potencial reproductivo (PR) de *G. lemaneiformis*, mientras que el oxígeno disuelto presentó un efecto menor pero también significativo, y el pH no mostró una influencia estadísticamente relevante. En detalle, la temperatura ($p < 0.001$) y la salinidad ($p = 0.006$) se asociaron positivamente con el aumento del PR. Aunque el oxígeno disuelto (OD) también tuvo un efecto significativo ($p = 0.040$), su impacto fue menor en comparación con los otros dos factores, lo que sugiere una posible influencia en el PR, pero con menor peso relativo. En contraste, el pH no mostró un efecto significativo ($p = 0.844$), indicando que este parámetro no influye de manera relevante en las condiciones evaluadas. La inclusión de la zona de muestreo como efecto aleatorio mejoró el ajuste del modelo ($AIC = 310.2$), permitiendo explicar mejor la variabilidad en los datos.

Análisis de la madurez de cistocarpos

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado ($\chi^2=25.8$, $gl = 2$, $p = 0.001$) indicaron diferencias significativas en la distribución de las fases de la macroalga entre las zonas de muestreo. El análisis post hoc reveló que la Zona A presentó una proporción significativamente diferente de fases en comparación con la Zona B ($p=0.002$) y la Zona C ($p=0.004$). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre la Zona B y la Zona C ($p=0.250$). El mayor porcentaje de cistocarpos maduros se encontró en la zona A (50%), seguido del B (41%) y C (37%); la cantidad de cistocarpos en maduración fue más alto en A, C y menor en B, y el mayor valor de cistocarpos inmaduros se

Analysis of physicochemical parameters

Analysis using a generalized linear mixed model (GLMM), considering sampling area as a random effect, showed that temperature and salinity had a significant impact on the reproductive potential (RP) of *G. lemaneiformis*, while dissolved oxygen had a smaller but also significant effect, and pH did not show a statistically significant influence. In detail, temperature ($p < 0.001$) and salinity ($p = 0.006$) were positively associated with increased RP. Although dissolved oxygen (DO) also had a significant effect ($p = 0.040$), its impact was smaller compared to the other two factors, suggesting a possible influence on the RP, but with less relative influence. In contrast, pH did not show a significant effect ($p = 0.844$), indicating that this parameter does not have a relevant influence on the conditions evaluated. The inclusion of the sampling area as a random effect improved the model fit ($AIC = 310.2$), allowing to better explain the variability in the data.

Analysis of the maturity of cystocarps

The results of the Chi-square test ($\chi^2=25.8$, $gl = 2$, $p = 0.001$) indicated significant differences in the distribution of the seaweed phases between sampling areas. Post hoc analysis revealed that Zone A had a significantly different proportion of phases compared to Zone B ($p=0.002$) and Zone C ($p=0.004$). However, no significant differences were found between Zone B and Zone C ($p=0.250$). The highest percentage of mature cystocarps was found in zone A (50%), followed by B (41%) and C (37%); the highest number of maturing cystocarps was found in A, C and the lowest in B, and the highest value of immature cystocarps were located in B, C; and lowest in A (Figure 4).

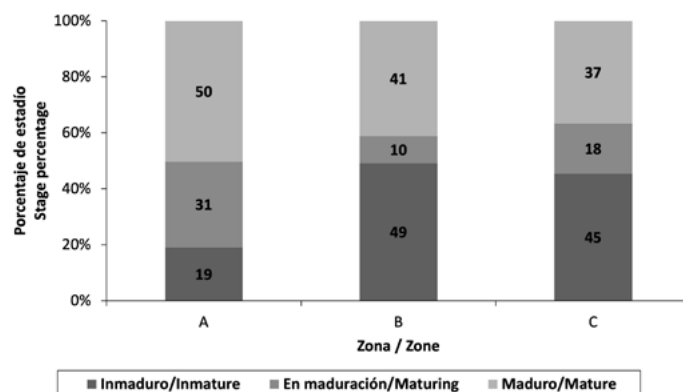


Figura 4. Porcentaje de estadios de madurez sexual de los cistocarpos por zonas de *Gracilariopsis lemaneiformis* en playa San Andrés, Pisco-Ica.

Figure 4. Percentage of sexual maturity stages of cystocarps by zone of *Gracilariopsis lemaneiformis* at San Andrés beach, Pisco, Ica

podieron ubicar en B, C; y menor en A (Figura 4).

DISCUSIÓN

G. lemaneiformis es una especie de alto valor económico y ampliamente cultivada en Asia, especialmente en China, Corea y Japón. Aunque la información en ese continente es extensa y valiosa (Ye *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; Pan *et al.*, 2022; Pang *et al.*, 2023), es importante considerar que las condiciones fisicoquímicas de la costa peruana difieren significativamente. Por ello, los estudios realizados en América del Sur resultan más adecuados para comprender la respuesta de esta macroalga a las condiciones ambientales locales y optimizar su cultivo en la región.

Este trabajo es el primero que se realiza en el Perú para evaluar el potencial reproductivo de *G. lemaneiformis*, enfocándonos en la liberación de esporas y evaluación de las estructuras reproductivas, así como en los parámetros ambientales y como estos podrían influir en la maduración y producción de esporas. Los únicos estudios previos sobre el cultivo de *G. lemaneiformis* en Perú son los de Cisneros *et al.* (1997) y Castillo *et al.* (1999). El primero, realizado en San Bartolo, Lima, empleó la técnica de crecimiento vegetativo para evaluar el incremento de biomasa en diferentes estaciones del año. El segundo, llevado a cabo en la caleta de Chérrepe (Región Lambayeque), exploró diversos métodos de cultivo vegetativo, como el uso de mangas plásticas ("chululos"), cuerdas suspendidas y líneas flotantes, evidenciándose diferencias en el desarrollo según la técnica empleada.

En este estudio se evidenció una clara diferenciación entre las tres zonas para cada uno de los parámetros evaluados (potencial reproductivo, nivel de madurez de cistocarpos, y número de cistocarpos g^{-1}). Esta variabilidad podría estar relacionado con las diferencias en las condiciones ambientales de las zonas A, B y C, donde se recolectaron las muestras de *G. lemaneiformis*.

Liu *et al.* (2017) señalaron que temperaturas superiores a 25 °C incrementan significativamente la producción de tetraesporas en esta especie. En este estudio, la zona A, que registró la mayor temperatura (24 °C), también presentó el mayor número de carposporas. Esta área, caracterizada por su menor profundidad (~40 cm), y que se vería favorecida por el aumento y la mantención uniforme de la alta temperatura a la que está expuesta en comparación con las otras zonas, sobre todo en

DISCUSSION

G. lemaneiformis is a species of high economic value and widely cultivated in Asia, especially in China, Korea and Japan. Although the information on that continent is extensive and valuable (Ye *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; Pan *et al.*, 2022; Pang *et al.*, 2023), it is important to consider that the physicochemical conditions of the Peruvian coast differ significantly. Therefore, studies conducted in South America are more appropriate to understand the response of this seaweed to local environmental conditions and to optimize its cultivation in the region.

This work is the first to be carried out in Peru to evaluate the reproductive potential of *G. lemaneiformis*, focusing on spore release and evaluation of reproductive structures, as well as on environmental parameters and how they might influence spore maturation and production. The only previous studies on the cultivation of *G. lemaneiformis* in Peru are those of Cisneros *et al.* (1997) and Castillo *et al.* (1999). The first, carried out in San Bartolo, Lima, used the vegetative growth technique to evaluate the increase in biomass in different seasons of the year. The second, carried out in the cove of Chérrepe (Lambayeque Region), explored various methods of vegetative culture, such as the use of plastic sleeves ("chululos"), suspended ropes and floating lines, showing differences in development according to the technique used.

This study showed a clear differentiation between the 3 zones for each of the parameters evaluated (reproductive potential, level of cystocarp maturity, and number of cystocarps g^{-1}). This variability could be related to differences in environmental conditions in zones A, B and C, where the *G. lemaneiformis* samples were collected.

Liu *et al.* (2017) noted that temperatures above 25 °C significantly increase tetraspore production in this species. In our study, zone A, which recorded the highest temperature (24 °C), also had the highest number of carpospores. This area, characterized by its shallower depth (~40 cm), and which would be favored by the increase and uniform maintenance of the high temperature to which it is exposed compared to the other zones, especially in summer. Studies such as those by Buschmann (1996) and Bellorin & Lemus (1997) would support this statement, since they point out that shallow depth plays a crucial role in the development, growth and reproduction of photosynthetic organisms

verano. Estudios como los de [Buschmann \(1996\)](#) y [Bellorín & Lemus \(1997\)](#) darían soporte a dicha afirmación, ya que señalan que la poca profundidad cumple un rol crucial en el desarrollo, crecimiento y reproducción de organismo fotosintéticos tales como las macroalgas, al favorecer la disponibilidad de la luz y condiciones estables como movimiento de agua y entrada de nutrientes. En esta zona, A, no solo se contabilizó el mayor número de esporas si no también individuos con elevado número de cistocarpos, un potencial reproductivo más alto, y un mayor número de estructuras reproductivas maduras, por lo que podríamos sugerir que estas condiciones están favoreciendo dichas características en los individuos macroalgales de *G. lemaiformis*.

[Li et al. \(2023\)](#) demostraron que no solo el crecimiento de los individuos se veía beneficiado con la presencia y disponibilidad de nutrientes (nitrógeno y fósforo), si no que estos también influían directamente en la producción de tetraesporas. En este estudio, los individuos con mayor producción de esporas se encontraron en la zona A, que recibe la influencia directa de efluentes del río Pisco. Según antecedentes previos, estos efluentes podrían contener una alta carga de nutrientes provenientes de fertilizantes agrícolas, así como contaminación asociada ([Solís e Inca, 2000](#); [Campos et al., 2017](#); [Olivares, 2022](#); [Barrera, 2024](#)), lo que podría haber afectado a los individuos más cercanos a la costa. Además, la proximidad de la zona de estudio al río Pisco y al humedal de San Andrés ha sido señalada como un factor que facilita filtraciones en las áreas adyacentes, lo que provocaría una disminución en la salinidad, fenómeno también evidenciado en la zona A. Esta reducción de salinidad podría haber tenido un efecto positivo en los individuos algales, reflejado en la mayor cantidad de esporas y cistocarpos observada en esta zona.

[Guzmán-Urióstegui y Robledo \(1999\)](#) probaron distintas condiciones de iluminación durante la liberación de esporas de *Gracilaria cornea*, y lograron obtener su mejor resultado con 8h de iluminación y temperatura de 26°C, aproximadamente 9000 carposporas por cistocarpio, muy superior a lo encontrado en el presente trabajo (648.4 ± 116.02 esporas/cistocarpio, para la zona B). [Michetti et al. \(2013\)](#) lograron conseguir 2000 carposporas por cistocarpio como pico de liberación en *Gracilaria gracilis* al aplicar y comparar distintas metodologías de esporulación, como descarga espontánea, shock osmótico, y desecación parcial, afirmando que estas metodologías podrían alternarse

such as seaweeds, by favoring the availability of light and stable conditions such as water movement and nutrient input. In this zone, A, not only was the highest number of spores recorded, but also individuals with a high number of cystocarps, a higher reproductive potential, and a greater number of mature reproductive structures, so we could suggest that these conditions are favoring these characteristics in the macroalgal individuals of *G. lemaiformis*.

[Li et al. \(2023\)](#) demonstrated that not only the growth of individuals benefited from the presence and availability of nutrients (nitrogen and phosphorus), but that these also directly influenced the production of tetraspores. In this study, the individuals with the highest spore production were found in zone A, which is directly influenced by effluents from the Pisco River. According to previous precedents, these effluents could contain a high load of nutrients from agricultural fertilizers, as well as associated pollution ([Solís and Inca, 2000](#); [Campos et al., 2017](#); [Olivares, 2022](#); [Barrera, 2024](#)), which could have affected individuals closer to the coast. In addition, the proximity of the study area to the Pisco River and the San Andrés wetland has been pointed out as a factor that facilitates leaks in adjacent areas, which would cause a decrease in salinity, a phenomenon also evidenced in zone A. This reduction in salinity could have had a positive effect on the algal individuals, reflected in the greater number of spores and cystocarps observed in this area.

[Guzmán-Urióstegui and Robledo \(1999\)](#) tested different illumination conditions during the release of *Gracilaria cornea* spores, and obtained their best result with 8h of illumination and a temperature of 26°C, approximately 9000 carpospores per cystocarp, much higher than that found in the present work (648.4 ± 116.02 spores/ cystocarp, for zone B). [Michetti et al. \(2013\)](#) succeeded in achieving 2000 carpospores per cystocarp as peak release in *Gracilaria gracilis* by applying and comparing different sporulation methodologies, such as spontaneous discharge, osmotic shock, and partial desiccation, stating that these methodologies could be alternated depending on the intention of the culture. The individuals used in this work were collected from the environment in the summer season, characterized by long periods of light (13h of light:11h of darkness), which contrasts with the high number of individuals with reproductive structures (cystocarps) which had already been generated from previous seasons with short photoperiods (winter, spring). A collection in other seasons of the year

dependiendo de la intención del cultivo. Los individuos usados en este trabajo fueron recolectados del ambiente, en época de verano, caracterizado por largos periodos de luz (13h de luz:11h de oscuridad), ello contrasta con la elevada cantidad de individuos con estructuras reproductivas (cistocarpos) los cuales ya se habían generado a partir de estaciones anteriores con fotoperiodos cortos (invierno, primavera). Una colecta en otras estaciones del año podría brindarnos información valiosa que permita comparar la producción de esporas anualmente.

Es importante tener en cuenta que la presencia de individuos fértiles en campo no garantiza la liberación de esporas. En India, [Chennubhotla et al. \(1986\)](#) tomaron muestras tetraesporofíticas y cistocárpicas *G. lemaneiformis* para evaluar su viabilidad reproductiva, pero, ninguna liberó esporas en condiciones de laboratorio. Esto demuestra la importancia de estudiar las condiciones que influyen o podrían estar ligados a la liberación de esporas de las poblaciones a pesar de la aparente fertilidad que presentan. [Aguilar-Rosas et al. \(1993\)](#) observaron que, en sustratos suaves, el desarrollo de esporas era improbable y predominaba la reproducción vegetativa. En cambio, en sustratos duros, se favorecía el asentamiento de esporas y permitía a especie alternar entre sus distintas etapas de vida. Otro estudio demostró que ambos tipos de esporas (tetra y carposporas) de *G. lemaneiformis* pueden sobrevivir algunas semanas en oscuridad absoluta ([Bird et al., 1977](#)) e inclusive unos días de desecación. Adicionalmente, se ha registrado mejores resultados de liberación de esporas al alargar la etapa nocturna ([Umamaheswara, 1976; Umamaheswara y Subbarangaiah, 1981](#)). Así se evidencia que es necesario experimentar distintos factores fisicoquímicos, así como diversas metodologías, para obtener el máximo rendimiento posible, no solo de liberación de esporas si no de maduración de estructuras ([Glenn et al., 1996; Alveal et al., 1997](#)).

Uno de los principales desafíos en el cultivo de *G. lemaneiformis* es el control de bacterias y epífitos, que pueden inhibir la germinación de las esporas, como lo demostraron [Egan et al. \(2001\)](#). Además, la extracción descontrolada de poblaciones naturales pone en riesgo la sostenibilidad del recurso. [Avila-Peltroche y Padilla-Vallejos \(2020\)](#) advirtieron que la recolección intensiva de macroalgas sin planes de manejo adecuados afecta la biodiversidad y la capacidad de regeneración de las praderas naturales. Nuestros resultados indican que las poblaciones en la zona A

could provide valuable information to compare spore production on a yearly basis.

It is important to keep in mind that the presence of fertile individuals in the field does not guarantee the release of spores. In India, [Chennubhotla et al. \(1986\)](#) took tetrasporophytic and cystocarpic samples *G. lemaneiformis* to assess their reproductive viability, but none released spores under laboratory conditions. This demonstrates the importance of studying the conditions that influence or could be linked to the release of spores from populations despite their apparent fertility. [Aguilar-Rosas et al. \(1993\)](#) observed that, on soft substrates, spore development was unlikely and vegetative reproduction predominated. On the other hand, on hard substrates, spore settlement was favored and allowed the species to alternate between its different life stages. Another study showed that both types of spores (tetra- and carpospores) from *G. lemaneiformis* can survive a few weeks in absolute darkness ([Bird et al., 1977](#)) and even a few days of desiccation. In addition, better spore release results have been reported by lengthening the night stage ([Umamaheswara, 1976; Umamaheswara and Subbarangaiah, 1981](#)). Thus, it is evident that it is necessary to experiment with different physicochemical factors, as well as different methodologies, to obtain the maximum possible yield, not only of spore release but also of maturation of structures ([Glenn et al., 1996; Alveal et al., 1997](#)).

One of the main challenges in the cultivation of *G. lemaneiformis* is the control of bacteria and epiphytes, which can inhibit spore germination, as demonstrated by [Egan et al. \(2001\)](#). In addition, the uncontrolled extraction of natural populations jeopardizes the sustainability of the resource. [Avila-Peltroche and Padilla-Vallejos \(2020\)](#) warned that intensive harvesting of macroalgae without adequate management plans affects biodiversity and the regeneration capacity of natural beds. Our results indicate that populations in zone A show high levels of reproductive maturity, which could be exploited through a sustainable harvesting model based on the spore cultivation technique. This approach would make it possible to take advantage of the reproductive potential of natural grasslands without compromising their regeneration, favoring the production of seed from spores.

Recent research on *G. lemaneiformis* have focused on growth ([Yang et al., 2006, Ye et al., 2006](#)), biomass yield ([Zhou et al., 2013a, 2016](#)), biochemical composition ([Zhang et al., 2020](#)) and environmental requirements ([Pan et al., 2022](#)). These studies

presentan altos niveles de madurez reproductiva, lo que podría aprovecharse mediante un modelo de recolección sostenible basado en la técnica de esporocultivo. Este enfoque permitiría aprovechar el potencial reproductivo de las praderas naturales sin comprometer su regeneración, favoreciendo la producción de semilla a partir de esporas

Las investigaciones recientes sobre *G. lemaneiformis* se han centrado en el crecimiento (Yang *et al.*, 2006; Ye *et al.*, 2006), rendimiento de biomasa (Zhou *et al.*, 2013a, 2016), composición bioquímica (Zhang *et al.*, 2020) y requisitos ambientales (Pan *et al.*, 2022). Estos estudios resaltan la importancia de optimizar las condiciones de cultivo para maximizar la productividad de la especie, al tiempo que intentamos minimizar el impacto de extracción en los ecosistemas.

En términos de cultivo, la propagación vegetativa sigue siendo la técnica más empleada, aunque presenta limitaciones como la baja diversidad genética y la susceptibilidad a enfermedades (Freitas *et al.*, 2021). Estudios recientes han demostrado que la diversificación de los métodos de propagación, incluyendo el uso de esporas, podría mejorar la productividad y reducir la propagación de patologías en cultivos intensivos (Murúa *et al.*, 2024). Además, la selección genética y la manipulación de condiciones ambientales han sido utilizadas con éxito en China para optimizar la producción de agar en *G. lemaneiformis* (Xiao *et al.*, 2022), lo que subraya la necesidad de continuar con estudios en el contexto peruano, considerando sus particularidades ambientales y productivas.

CONCLUSIÓN

El potencial reproductivo de la *G. lemaneiformis*, la distribución de nivel de madurez de cistocarpos, y el número de cistocarpos por gramos de macroalga, presentan diferencias significativas, dependiendo de la zona de extracción de individuos, más no la cantidad de esporas por cistocarpos. De todas las muestras de *G. lemaneiformis* recolectados en la playa San Andrés, se pudo obtener en promedio: 137 359 esporas g^{-1} , 275 cistocarpos, Potencial Reproductivo de 154 097 esporas gr^{-1} . Los datos de este trabajo señalan que las condiciones de orilla serían propicias para la madurez de estructuras reproductivas y liberación de esporas en esta especie. Es necesario llevar a cabo estudios adicionales que puedan complementar esta investigación, como

highlight the importance of optimizing growing conditions to maximize the productivity of the species, while trying to minimize the impact of extraction on ecosystems.

In terms of cultivation, vegetative propagation is still the most widely used technique, although it has limitations such as low genetic diversity and susceptibility to diseases (Freitas *et al.*, 2021). Recent studies have shown that diversification of propagation methods, including the use of spores, could improve productivity and reduce the spread of pathologies in intensive crops (Murúa *et al.*, 2024). In addition, genetic selection and manipulation of environmental conditions have been successfully used in China to optimize agar production in *G. lemaneiformis* (Xiao *et al.*, 2022), which underlines the need to continue with studies in the Peruvian context, considering its environmental and productive particularities.

CONCLUSION

The reproductive potential of *G. lemaneiformis*, the distribution of the level of maturity of cystocarps, and the number of cystocarps per gram of seaweed, show significant differences, depending on the area of extraction of individuals, but not the number of spores per cystocarp. From all samples of *G. lemaneiformis* collected at San Andrés beach, we obtained an average of 137 359 spore g^{-1} , 275 cystocarps, Reproductive Potential of 154 097 spores g^{-1} . The data from this work indicate that shore conditions would be conducive to the maturity of reproductive structures and spore release in this species. Additional studies are needed that can complement this research, such as spore settlement, germination, spore production evaluations at different times of the year and biomass estimation in natural beds. These studies could lead to the suggestion of management plans in the coastal region of Peru. In turn, the production data can be used for the development of a spore-culture of the species for possible future scaling-up.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Programa Nacional de Innovación en Perca y Acuicultura (PNIPA) and the Universidad Científica del Sur (UCSUR No. 056-2022-PRO99) for being the entities that financed the present research work that was framed within the project: "Implementación de un plantel de cultivo piloto comercial de *Gracilaria lemaneiformis* "pelillo" empleando dos sistemas de cultivo (fondo y suspendido) para su evaluación en el rendimiento de

el asentamiento de esporas, la germinación, las evaluaciones de producción de esporas en diferentes épocas del año y la estimación de la biomasa en las praderas naturales. Estos estudios podrían llevar a sugerir planes de manejo en la región costera del Perú. A su vez, los datos de producción pueden ser empleados con fines de desarrollo de un esporo-cultivo de la especie para un posible escalamiento a futuro.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura (PNIPA) y a la Universidad Científica del Sur (UCSUR N° 056-2022-PRO99) por ser las entidades que financiaron el presente trabajo de investigación que se encontraba enmarcado dentro del proyecto: “Implementación de un plantel de cultivo piloto comercial de *Gracilariopsis lemaneiformis* “pelillo” empleando dos sistemas de cultivo (fondo y suspendido) para su evaluación en el rendimiento de obtención del ficocoloide agar” - Contrato N° 452-2020-PNIPA-SUBPROYECTO.

obtención del ficocoloide agar” - Contract No. 452-2020-PNIPA-SUBPROYECTO.

BIBLIOGRAFÍA/LITERATURE CITED

- Aguilar-Rosas, R., Marcos-Ramírez, R., Lobo-Niembro, J. and Zertuche-González, J. (1993). Seasonal variation of reproductive and vegetative phases of *Gracilaria pacifica* Abbott, in Estero de Punta Banda, Baja California, Mexico. *Ciencias Marinas*, 19(2), pp.219–228. <https://doi.org/10.7773/cm.v19i2.927>.
- Alveal, K., Romo, H., Werlinger, C. and Oliveira, E.C. (1997). Mass cultivation of the agar-producing alga *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) from spores. *Aquaculture*, 148(2-3), pp.77–83. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(96\)01415-9](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(96)01415-9).
- Arakaki, N., Schmidts, W.E., Carbajal, P. and Fredericq, S. (2015). First occurrence of *Gracilaria chilensis*, and distribution of *Gracilariopsis lemaneiformis* (Gracilariaceae, Gracilariales) in Peru on the basis of rbcL sequence analysis. *Phytotaxa*, 208(2), pp.175–181. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.208.2.7>.
- Arbaiza, S. (2016). *Viabilidad reproductiva para el cultivo de Chondracanthus chamissoi proveniente de tres poblaciones del litoral peruano*. [Tesis Maestría en Acuicultura] *Lamolina.edu.pe*, p.114. Available at: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/2772>.
- Avila-Peltroche, J. and Padilla-Vallejos, J. (2020). The seaweed resources of Peru. *Botanica Marina*, 63(4), pp.381–394. <https://doi.org/10.1515/bot-2020-0026>.
- Barrera Castillo, V.V. (2024). *Vertimiento de aguas residuales domiciliarias y el grado de contaminación del río Pisco, Ica, 2023*. [Tesis Lic. Ing. Amb] *Unica.edu.pe*, Universidad Nacional San Luis Gonzaga, p.65. Available at: <https://repositorio.unica.edu.pe/items/89573d43-4c65-49e1-8f12-bf757f8df474>.
- Bellorín, A.M. y Lemus, J. (1997). Efecto de la temperatura y la irradiancia en el crecimiento in vitro del alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Bird & Oliveira) Fredericq & Hommersand (Gracilariales, Rhodophyta). *Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela*, 36, pp.61–67.
- Bird, N., McLachlan, J. and Grund, D. (1977). Studies on *Gracilaria*. 5. *In vitro* life history of *Gracilaria* sp. from the Maritime Provinces. *Canadian Journal of Botany*, 55(10), pp.1282–1290. <https://doi.org/10.1139/b77-149>.
- Bulboa, C., Macchiavello, J., Oliveira, E. and Véliz, K. (2008). Growth rate differences between four Chilean populations of edible seaweed *Chondracanthus chamissoi* (Rhodophyta, Gigartinales). *Aquaculture Research*, 39(14), pp.1550–1555. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02028.x>.
- Buschmann, A.H., López, D.A. and Medina, A. (1996). A review of the environmental effects and alternative production strategies of marine aquaculture in Chile. *Aquacultural Engineering*, 15(6), pp.397–421. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(96\)01006-0](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(96)01006-0).
- Campos, S., Pinazo, K., Gutiérrez, P. y Quiroz, M. (2017). Monitoreo biológico poblacional del recurso ‘camaron de río’ *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782) en los ríos Majes-Camaná y Ocoña. 2015. *Informe del Instituto del Mar del Perú*, 44(3), pp. 268–283. Available at: <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/3225>.
- Castillo, S.J., Espinoza, P.S. y Valdivieso, M.V. (1999). Guía para el cultivo del alga *Gracilaria* y manejo de praderas naturales. Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (Fondepes), Lima. Lima, p.22. Disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/6771351/5868005-cultivo-del-alga-gracilaria-y-manejo.pdf>.
- Chen, X., Tang, Y., Sun, X., Zhang, X. and Xu, N. (2022). Comparative transcriptome analysis reveals the promoting effects of IAA on biomass production and branching of *Gracilariopsis lemaneiformis*. *Aquaculture*, 548, p.737678. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737678>.
- Chennubhotla, K.V.S., Kaliaperumal, N., Ramalingam, R.J. and Kalimuthu, S. (2015). Growth, reproduction and spore output in *Gracilaria foliifera* (Forsskal) Boergesen and *Gracilariopsis sjoestedtii* (Kyllin) Dawson around Mandapam. *Indian Journal of Fisheries*, 33(1), pp.76–84. Available at: https://eprints.cmfri.org.in/3731/Article_09.pdf.

- Cisneros, R., Bautista, J. y Santos, C. (1997). Cultivo experimental del alga *Gracilariopsis lemaneiformis* en ambiente natural. *Informe Progresivo del Instituto del Mar Perú*, 60: 3–10. Disponible en: <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/1455>.
- Cotas, J., Gomes, L., Pacheco, D. and Pereira, L. (2023). Ecosystem services provided by seaweeds. *Hydrobiology*, 2(1), pp. 75–96. <https://doi.org/10.3390/hydrobiology2010006>
- Egan, S., James, S., Holmström, C. and Kjelleberg, S. (2001). Inhibition of algal spore germination by the marine bacterium *Pseudoalteromonas tunicata*. *FEMS Microbiology Ecology*, 35(1), pp. 67–73. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2001.tb00789.x>.
- Freitas, M., Mouga, T., Ana Patrícia Correia, Afonso, C. and Baptista, T. (2021). New insights on the sporulation, germination, and nutritional profile of *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta) grown under controlled conditions. *Journal of Marine Science and Engineering*, 9(6), pp. 562–562. <https://doi.org/10.3390/jmse9060562>.
- Gerard, V.A. (1988). Ecotypic differentiation in light-related traits of the kelp *Laminaria saccharina*. *Marine Biology*, 97(1), pp. 25–36. <https://doi.org/10.1007/bf00391242>.
- Glenn, E.P., Moore, D., Fitzsimmons, K. and Azevedo, C. (1996). Spore culture of the edible red seaweed, *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta). *Aquaculture*, 142(1-2), pp. 59–74. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01249-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01249-4).
- González, M., Montoya, R., Candia, A., Gómez, P. and Cisternas, M. (1996). Organellar DNA restriction fragment length polymorphism (RFLP) and nuclear random amplified polymorphic DNA (RAPD) analyses of morphotypes of *Gracilaria* (Gracilariales, Rhodophyta) from Chile. In: *Fifteenth International Seaweed Symposium*. Dordrecht, Netherlands: Springer, pp. 229–234. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1659-3_32.
- González-Leija, J.A., Hernández-Garibay, E., Pacheco-Ruiz, I., Guardado-Puentes, J., Espinoza-Avalos, J., López-Vivas, J.M. and Bautista-Alcantar, J. (2008). Optimization of the yield and quality of agar from *Gracilariopsis lemaneiformis* (Gracilariales) from the Gulf of California using an alkaline treatment. *Journal of Applied Phycology*, 21(3), pp. 321–326. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9370-0>.
- Guzmán-Urriostegui, A. and Robledo, D. (1999). Factors affecting sporulation of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) carposporophytes from Yucatan, Mexico. *Hydrobiologia*, 398/399, pp. 285–290. <https://doi.org/10.1023/a:1017071427664>.
- Halling, C., Aroca, G., Cifuentes, M., Buschmann, A.H. and Troell, M. (2005). Comparison of spore inoculated and vegetative propagated cultivation methods of *Gracilaria chilensis* in an integrated seaweed and fish cage culture. *Aquaculture International*, 13(5), pp. 409–422. <https://doi.org/10.1007/s10499-005-6977-x>
- Hayashi, L., Bulboa, C., Kradolfer, P., Soriano, G. and Robledo, D. (2013). Cultivation of red seaweeds: a Latin American perspective. *Journal of Applied Phycology*, 26(2), pp. 719–727. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0143-z>.
- Infante, R. y Candia, A. (1988). Cultivo de *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss e *Iridaea ciliata* Kitzing (Rhodophyta, Gigartinales) en laboratorio: esporulación inducida y colonización de carposporas en diferentes sustratos. *Gayana Botánica*, 45, pp. 297–304.
- Jiang, H., Zou, D. and Chen, B. (2018). Effects of reduced carbon supply and sunlight on photosynthetic and antioxidant activities of *Gracilariopsis lemaneiformis*, and subsequent changes of these activities under recovery conditions with different salinities. *Aquaculture*, 493, pp. 258–263. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.014>.
- Kain, J.M. and Destombe, C. (1995). A review of the life history, reproduction and phenology of *Gracilaria*. *Journal of Applied Phycology*, 7(3), pp. 269–281. <https://doi.org/10.1007/bf00004001>.
- Li, P., Chen, H., Zhang, J., Feng, X., Xiao, B., Hu, Y. and Sui, Z. (2023). Effects of nutrient deficiency on the branch phenotype of the macroalgae *Gracilariopsis lemaneiformis* (Rhodophyta). *Aquaculture*, 562, p. 738794. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738794>.
- Li, T., Wu, J., Du, H., Pei, P., Yang, C., Huang, J., Liu, X., Liang, H., Chen, W., Zhang, D. and Lin, S. (2022). Environmental nitrogen and phosphorus nutrient variability triggers intracellular resource reallocation in *Gracilariopsis lemaneiformis* (Rhodophyta). *Algal Research*, 66, p. 102778. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102778>.
- Lideman, L., Bahri, S., Marwan, N., Hartanto, N., Laining, A. and Tassakka, A. (2019). Releasing, attaching and growing of seaweed (*Gracilaria* sp.) spores in several culture media. *AACL Bioflux*, 12(6), pp. 2137–2146. <https://bioflux.com.ro/docs/2019.2137-2146.pdf>.
- Liu, L., Zou, D., Jiang, H., Chen, B. and Zeng, X. (2017). Effects of increased CO₂ and temperature on the growth and photosynthesis in the marine macroalga *Gracilaria lemaneiformis* from the coastal waters of South China. *Journal of Applied Phycology*, 30(2), pp. 1271–1280. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1316-y>.
- Liu, S., Zhang, J., Hu, C., Sun, X. and Xu, N. (2021). Physiological and transcriptome analysis of γ-aminobutyric acid (GABA) in improving *Gracilariopsis lemaneiformis* stress tolerance at high temperatures. *Algal Research*, 60, pp. 102532–102532. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102532>.
- Marín-Salgado, H. y Peña-Salamanca, E.J. (2025). Características histológicas de las fases reproductivas del alga roja *Gracilaria blodgettii* (Gracilariaceae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 35(135), pp. 125–132. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-39082011000200001.
- Mazumder, S., Ghosal, P.K., Stortz, C.A., Carlucci, M., Damonte, E.B. and Ray, B. (2002). Isolation, chemical investigation and antiviral activity of polysaccharides from *Gracilaria corticata* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *International Journal of Biological Macromolecules*, 31(1-3), pp. 87–95. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(02\)00070-3](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(02)00070-3).
- McAlice, B.J. (1971). Phytoplankton sampling with sedgwick rafter cell. *Limnology and Oceanography*, 16(1), pp. 19–28. <https://doi.org/10.4319/lo.1971.16.1.0019>.
- Meinita, M.D.N., Marhaeni, B., Winanto, T., Jeong, G.-T., Khan, M.N.A. and Hong, Y.-K. (2013). Comparison of agarophytes (*Gelidium*, *Gracilaria*, and *Gracilariopsis*) as potential resources for bioethanol production. *Journal of Applied Phycology*, 25(6), pp. 1957–1961. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0041-4>.
- Michetti, K.M., Martín, L.A. and Leonardi, P.I. (2013). Carpospore release and sporeling development in *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) from the southwestern Atlantic coast (Chubut, Argentina). *Journal of Applied Phycology*, 25(6), pp. 1917–1924. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0029-0>.
- Murúa, P., Muñoz, L., Bustamante, D., Gauna, C., Hayashi, L., Robledo, D., Strittmatter, M., Arce, P., Westermeier, R., Müller, D.G. and Gachon, C.M.M. (2024). The first phycopathological atlas in Latin America unveils the underdocumentation of algal pathogens. *Algal research*, 62, p. 103604. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103604>.
- Pan, Z., Yu, Y., Chen, Y., Yu, C., Xu, N. and Li, Y. (2022). Combined effects of biomass density and low-nighttime temperature on the competition for growth and physiological performance of *Gracilariopsis lemaneiformis* and *Ulva prolifera*. *Algal Research*, 62, p. 102638. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102638>.
- Pang, T., Lu, L., Xue, J., Xin, X. and Liu, J. (2023). A new mode of cultivating *Gracilariopsis lemaneiformis* for saving environmental and economic costs: Keeping a full stand of vegetative frond cuttings in northern China

- during the winter. *Aquaculture*, 571, pp. 739459–739459. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739459>.
- Ren, X., Zhang, X. and Sui, Z. (2006). Identification of phase relative genes in tetrasporophytes and female gametophytes of *Gracilaria/Gracilariopsis lemaneiformis* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Electronic Journal of Biotechnology*, 9(2), pp. 127–132. <https://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/v9n2-11>.
- Rodríguez, E., Fernández, M., Alvítez, E., Pollack, L., Luján, L., Geldres, C. y Paredes, Y. (2018). Algas marinas del litoral de la región La Libertad, Perú. *Scientia Agropecuaria*, 9(1), pp. 71–81. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.08>.
- Romo, H. (1988). Cultivo de algas mediante esporas. *Investigación Pesquera-Instituto de Fomento Pesquero*, 35, pp.89–98.
- Santelices, B., Vásquez, J., Ohme, U. and Fonck, E. (1984). Managing wild crops of *Gracilaria* in central Chile. In: *Eleventh International Seaweed Symposium*. Dordrecht, Netherlands: Springer, pp.77–89. https://doi.org/10.1007/978-94-009-6560-7_12.
- Solís Acosta, J. e Inca, J. (2000). Características hidroquímicas en la bahía de Paracas, Pisco, a fines de la primavera 1999. *Informe Progresivo del Instituto del Mar del Perú*, 123: 3-19. Available at: <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/1153>.
- Song, T., Liu, L., Tang, Q., Xiang, S., Wang, B., Zhang, S., Wang, X., Chu, Y., Luo, D. and Lin, J. (2021). Antioxidant neoagarooligosaccharides (NAOs) and dietary fiber production from red algae *Gracilariopsis lemaneiformis* using enzyme assisted one-step process. *Food Hydrocolloids*, 125, pp. 107382–107382. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107382>.
- Umamaheswara, M.R. (1976). Spore liberation in *Gracilaria corticata* J. Agardh growing at Mandapam. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 21(1), pp. 91–98. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(76\)90071-x](https://doi.org/10.1016/0022-0981(76)90071-x).
- Umamaheswara, R.M. and Subbarangaiah, G. (1981). Effects of environmental factors on the diurnal periodicity of tetraspores of some Gigartinales (Rhodophyta). In: *International Seaweed Symposium (Xth)*. Berlin, Germany: DeGrueter Brill, pp.209–214. <https://doi.org/10.1515/9783110865271-019>.
- Wang, X., He, L., Ma, Y., Huan, L., Wang, Y., Xia, B. and Wang, G. (2020). Economically important red algae resources along the Chinese coast: History, status, and prospects for their utilization. *Algal Research*, 46, p. 101817. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101817>.
- Wang, Z., Wang, G., Niu, J., Wang, W. and Peng, G. (2010). Optimization of conditions for tetraspore release and assessment of photosynthetic activities for different generation branches of *Gracilaria lemaneiformis* Bory. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 28(4), pp. 738–748. <https://doi.org/10.1007/s00343-010-9908-2>.
- Wei, Z., Zhang, Y., Yang, F. and Liang, J. (2021). Increased light availability modulates carbon and nitrogen accumulation in the macroalga *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) in response to ocean acidification. *Environmental and Experimental Botany*, 187, p. 104492. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104492>.
- Xiao, B., Hu, Y., Feng, X. and Sui, Z. (2022). Breeding of new strains of *Gracilaria lemaneiformis* with high agar content by ARTP mutagenesis and high osmotic pressure screening. *Marine Biotechnology*, 25(1), pp. 100–108. <https://doi.org/10.1007/s10126-022-10184-2>.
- Yang, Y., Li, W., Li, Y. and Xu, N. (2021). Photophysiological responses of the marine macroalga *Gracilaria lemaneiformis* to ocean acidification and warming. *Marine Environmental Research*, 163, p. 105204. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.105204>.
- Yang, Y.-F., Fei, X.-G., Song, J.-M., Hu, H.-Y., Wang, G.-C. and Chung, I.K. (2006). Growth of *Gracilaria lemaneiformis* under different cultivation conditions and its effects on nutrient removal in Chinese coastal waters. *Aquaculture*, 254(1-4), pp. 248–255. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.08.029>.
- Ye, N., Wang, H. and Wang, G. (2006). Formation and early development of tetraspores of *Gracilaria lemaneiformis* (Gracilaria, Gracilariaceae) under laboratory condition. *Aquaculture*, 254(1-4), pp. 219–226. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.08.026>.
- Zhang, X., Hu, C., Sun, X., Zang, X., Zhang, X., Fang, T. and Xu, N. (2020). Comparative transcriptome analysis reveals chitooligosaccharides-induced stress tolerance of *Gracilariopsis lemaneiformis* under high temperature stress. *Aquaculture*, 519, p. 734876. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734876>.
- Zhou, W., Sui, Z., Wang, J. and Chang, L. (2013a). An orthogonal design for optimization of growth conditions for all life history stages of *Gracilariopsis lemaneiformis* (Rhodophyta). *Aquaculture*, 392-395, pp. 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.02.008>.
- Zhou, W., Hu, Y., Sui, Z., Fu, F., Wang, J., Chang, L., Guo, W. and Li, B. (2013b). Genome survey sequencing and genetic background characterization of *Gracilariopsis lemaneiformis* (Rhodophyta) based on next-generation sequencing. *PLoS One*, 8(7), p. e69909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069909>.
- Zhou, W., Sui, Z., Wang, J., Hu, Y., Kyoung Ho Kang, Hak Bae Kim and Niaz, Z. (2016). Mass cultivation of economically important red alga *Gracilaria lemaneiformis* (Gracilariaceae, Rhodophyta) from tetraspores and carpospores. *Aquaculture*, 460, pp. 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.03.052>.

